ISSN 0181-1568

CRYPTOGAMIE

ALGOLOGIE

TOME 11 Fascicule 4 1990

LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12, RUE BUFFON, 75005 PARIS



PUBLICATION TRIMESTRIELLE

Novembre 1990

MANUSCRITS

Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le premier fascicule de chaque tome. Les auteurs sont priés d'adresser leurs manuscrits (en trois exemplaires) au Directeur-Rédacteur de *Cryptogamie, Algologie*, Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, 75005 Paris.

Les tirages à part et les illustrations sont à la charge des auteurs.

ABONNEMENTS ANNUELS
Tome 12, 1991

CRYPTOGAMIE comprend trois Sections:
Algologie, Bryologie-Lichénologie, Mycologie.

Abonnement à l'une ou l'autre Section pour 1991:
France .... (326 F ht) 332,85 F ttc
Étranger .... 357,00 F

Abonnement aux 3 Sections pour 1991:
France .... (918 F ht) 937,28 F ttc
Étranger .... 1000,00 F

Prière de bien vouloir envoyer le montant par chèque bancaire ou par chèque postal libellé à l'ordre de : A.D.A.C. - CRYPTOGAMIE (CCP La Source 34 764 05 S), et adressé à:

A.D.A.C. - CRYPTOGAMIE
12, rue Buffon, F-75005 Paris.

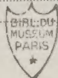
Cryptogamie, Algologie est indexé par *Aquatic Sciences Fisheries Abstracts Part 1, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Current Contents, Marine Science Contents Tables (F.A.O.)*, Publications bibliographiques du CDST (Pascal).

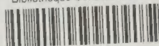
CRYPTOGAMIE
ALGOLOGIE

TOME 11 Fascicule 4 1990

Anciennement REVUE ALGOLOGIQUE
Fondée en 1922 par P. ALLORGE et G. HAMEL
Directeur-Rédacteur : P. BOURRELLY
Éditeur : A.D.A.C.

SOMMAIRE





CRYPTOGAMIE, ALGOLOGIE
Tome 11 Fascicule 4 1990

CONTENTS

A NEW MEMBER OF THE CHLOROCOCCALES, *BILGRAMIA INDICA* GEN. ET SP. NOV. (CHLOROPHYCEAE) FROM INDIA

R.N. YADAVA

Department of Botany, Bhagalpur University,
Bhagalpur, 812007, India.

ABSTRACT - A new genus, *Bilgramia* gen. nov. (Chlorococcales) has been reported from India. The alga has a characteristic cruciate arrangement of cells with a hollow space in the centre of the coenobium. Colonies are interconnected by intercolonial mucilaginous strands. Several successive synchronous divisions along with different modes of reproduction have been observed. Since the alga exhibits a combination of characters of both the family Scenedesmaceae and Dictyosphaeriaceae, therefore, it has been proposed to be a new genus.

RÉSUMÉ - Un nouveau genre, *Bilgramia* gen. nov. (Chlorococcales) a été trouvé en Inde. La disposition cruciée des cellules avec un espace libre au centre du cénobe est caractéristique de cette espèce. Les colonies sont reliées entre elles par des filaments mucilagineux. Une succession de divisions synchrones ainsi que différents modes de reproduction ont été observés. Cette algue présentant une combinaison de caractères de deux familles, les Scenedesmaceae et les Dictyosphaeriaceae, un nouveau genre est proposé. (traduit par la rédaction).

KEY WORDS : *Bilgramia* gen. nov., Chlorophyta, Chlorococcales.

INTRODUCTION

The subfamily Crucigenioideae (family Scenedesmaceae) is represented by 8 genera viz., *Hofmania* Chodat = *Komareckia* Fott, *Danubia* Hindak, *Westella* De-Wild., *Pseudotetrastrum* Hindak, *Tetrachlorella* Kors., *Crucigenia* Morren, *Cruciginella* Lemm., *Tetrastrum* Chodat, *Willea* Schmidle (Philipose, 1967; Hindak, 1977; Lund, 1962; Yadava & Pandey, 1980, 1983; Yadava *et al.*, 1985). In the present study another new genus *Bilgramia* gen. nov. has been reported.

MATERIAL AND METHODS

The alga was collected from a fresh water ditch lying at latitude 25°30'N, longitude 81°40E at Chakniranjan, Varanasi, India. The alga was found in a small ditch which usually accumulates rain water. The alga ap-

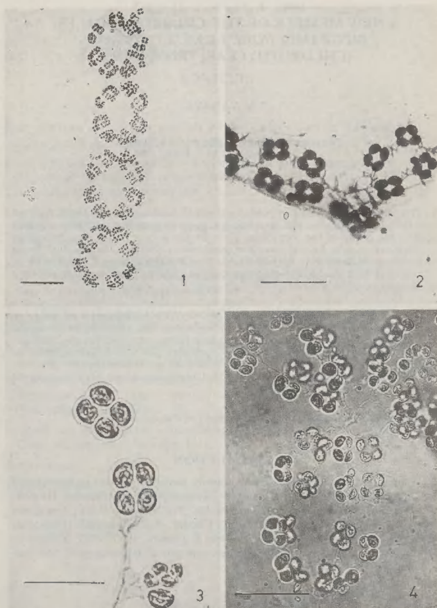


Fig. 1 and 4: Colonies from nature. Fig. 1: scale = 100μm; Fig. 4: scale = 8μm. Fig. 2: Colonies stained with gentian violet showing connecting strands. Scale = 10μm. Fig. 3: Few magnified colonies with their cells having chloroplast and pyrenoids. Scale = 15μm.

peared as a phytoplankton of a light pale-green colour. It was isolated and grown in unialgal culture in liquid and solid Bold's medium (1949), providing controlled temperature at 21±1°C under illumination of 2000 lux.

DESCRIPTION OF THE ALGA

The colony is composed of a number of coenobia (Fig. 1). The basic unit of thallus is coenobium. A coenobium is typically formed of 4 cells, but later on due to formation of autocolonies in each individual cell the colony becomes a multicellular structure. The number of cells in a colony may reach upto 800 or more (Fig. 1). Colonies remain held together by mucilaginous strands and forming a long chain of a multiple or compound colony (Fig. 1, 4). Whenever a cell forms an autocolony attached to one another in a chain of mucilaginous strands which can be well detected by staining with India ink.

Cells of a colony are cruciately arranged leaving a quadrangular space in the centre (Figs. 2, 5). The cells are ovoid in shape and have contacts with the adjacent ones by mucilage (Fig. 3). Cells are 3.7-14μm broad, 4-10μm long and the 4 celled colonies are 7 to 14μm broad, 8 to 10μm long (Figs. 8, 9, 10, 11). Cells have a single parietal chloroplast with a pyrenoid filling up almost the entire space of the cell. A four celled colony reproduces by formation of autocolonies and each cell may function as a mother cell. Usually all the cells of a colony produce autocolonies almost simultaneously but in some cases only one, two or three cells behave as mother cells to produce autocolonies (Figs. 9, 10, 11). During this process the protoplast of a mother cell divides simultaneously by two cross walls at right angles to each other and results into 4 celled autocolony (Fig. 11, 12, 13).

CULTURAL OBSERVATION

In solid medium, the central quadrangular space of a coenobium get reduced whereas in liquid medium central quadrangular space remains the same as it was in natural conditions (Fig. 6, 7). Some additional observations were also recorded in cultures grown on solid medium. Individual cells acquire different shapes. Single cells enlarge in size and fail to divide and form a club shaped structure (Fig. 25, 26, 36). Some cells also attain the shape of horse shoe (Figs. 22, 28, 29, 31, 32). In certain other cases it has been observed that certain cells swell and secrete mucilage around themselves. Such large cells may be upto 16μm in diameter (Figs. 14, 18). The contents of such thick-walled perenating cells may divide into two, followed by more divisions in the longitudinal plane resulting into 8 to 32 celled stage (Figs. 17 20, 21, 24). However, such percenting cells with as many as 32 places of protoplast are not recorded in other genera of the group.

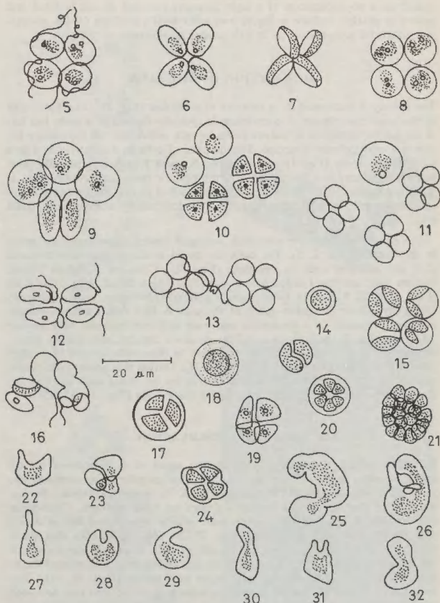


Fig. 5-8 and 18: four celled basic units of the colonies in culture. Fig. 9-11: Various stages in formation of autocolonies in culture. Figs. 12, 13 and 16: Colonies with thread like remnants in culture. Fig. 14, 17-21: Stages of the division of perenating cells in solid medium. Fig. 22-32: Cells are in different shape and size due to cultural variations.

DISCUSSION

Crucigenioideae is subfamily under the family Scenedesmaceae in which only three genera, i.e. *Hofmania, Crucigenia* and *Tetrastrum* have been mentioned by Philipose (1967) from the Indian region. Later on Hindak (1977) listed six more genera i.e. *Danubia, Westella, Pseudotetrastrum, Tetrachlorella, Crucigeniella*, and *Willea.* Presently described alga has similarity with genus *Hofmania = Komarekia* Fott; Fott (1981) described three species of the genus, i.e. *K. lauterbornii, K. appendiculata*, and *K. rotundata.* The described alga may be placed under the subfamily Crucigenioideae because of its 4-celled colonies and with cruciate arrangements of cells. The basic number of cells per colony is 4, situated in one plane. The four cells are arranged cruciately/quadriately as in *Crucigenia.* The four cells lie close to one another or in direct lateral contact. Therefore, this alga has been put in the above family. But on the other hand it shares the characters of family Dictyosphaeriaceae, because mucilage strands arising from cell wall fragments that give an impression of *Dictyosphaerium* and allies. However, there the colony structure is radial whereas this alga like *Komarekia* is quadrate, cruciate, so it is related to *Crucigenia* and allies.

Indeed, this alga possess its own generic characters i.e. the organisation of colonies are held together in an orderly manner by intercolonial mucilage strands forming a compound colony. Colony is quite large in size (upto 800 cells). It also is evidence of several successive synchronous divisions with different mode of reproduction. Since the alga exhibits a combination of both Crucigenioideae and Dictyosphaeriaceae therefore, it has been proposed as a new genus *Bilgramia* gen. nov. under subfamily Crucigenioideae in the name of notable Botanist Prof. K.S. Bilgrami.

Latin diagnosis of *Bilgramia* gen. nov.

Colony composed of number of coenobia. Coenobia typically 4-celled. Coenobia remain held together by intercolonial mucilage strands. Colony is quite large in size. Several successive synchronous divisions are common feature of reproduction, which is new mode of reproduction.

Colonia e numerosis coenobiis typice tetracellularis composita. Coenobia per vestigia cellularum quae catenas longas filiorum mucosorum formant, contentia. Cellulae cruciate dispositae, spatium quadrangulare reliquentes. Multiplicatio simultanea per autocolonias effecta.

Typus generis: Bilgramia indica sp. nov.

Latin diagnosis of *Bilgramia indica* sp. nov.

4 celled coenobia measure from 20-24μm in diameter and individual cells from 4 to 8μm broad and 6 to 10 μm long. Each cell has parietal chloroplast with a pyrenoid. Reproduction by autocolonies and perenating cells. Synchronous divisions are common feature. Type locality: growing in the form of bloom in a small ditch, village Chaknirajan, Varanasi, U.P. India.

Coenobiorum tetracellularium usque ad 20-24μm diameter, cellulae usque ad 4-8μm latitudo, 6-10μm longitudo. Omnes cellulae cum uno parietale chloro-

plasto cum pyrenoide. Multiplicatio per autocolonias et cellulas perennantibus effecta.

Locus typi: Typus ut "aquiflorem" abundantem in fossa parva colens, in vico Chakniranjan, Pago Varanasi dicto.

Specimen typi: specimen typicum (D.C. P. 36) in Departamento Botanico, Universitatis Allahabadis, Allahabad depositum.

ACKNOWLEDGEMENT

The author is greatly indebted to late Prof. D.C. Pandey, Head of the Botany Department, Allahabad University for the guidance and Prof. K.S. Bilgrami, Head, University Department of Botany, Bhagalpur for laboratory facilities. Grateful thanks are extended to Dr. J.W.G. Lund, F.R.S., Freshwater Biological Association, U.K. and Dr. G.L. Tiwari of Allahabad University India for their valuable comments. Thanks are also due to Dr. H. Croasdale for latin description and D.S.T. new Delhi for financial assistance.

REFERENCES

BOLD D.H.C., 1949 - The morphology of *Chlamydomonas gloeogama* sp. nov. *Bull. Torrey Bot. Club.* 79: 101.

FOTT B., 1981 - Fritsch collection of illustrations of Fresh water algae A2-10 to A3.

HINDAK F., 1977 - Studies on the Chlorococcal Algae/Chlorophyceae/I. *Veda, Publ. House of the Slovak Acad. of Sci. Bratislava,* 23 (4): 1-190.

LUND J.W.G., 1962 - Classical and modern criteria used in algal taxonomy with special reference to genera of microbial size. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.* 12: 68-110.

PHILIPOSE M.T., 1967 - *Chlorococcales.* I.C.A.R. New Delhi, 365 p.

YADAVA R.N. & PANDEY D.C., 1980 - Cultural observations on the morphology and nature of setae formation in the genus *Micractinium* Fresenius (Chlorophyta, Chlorococcales). *Nova Hedwigia,* 33: 389-393.

YADAVA R.N. & PANDEY D.C., 1983 - Observation on the morphology of *Crucigenia fenestrata* (Schmilde) Schmilde (Chlorococcales) and effect of Colchicine on the thallus structure. *Nova Hedwigia* 66: 195-202.

YADAVA R.N., BHOWMICK B.N. & SINGH A.K., 1985 - Occurrence of *Dimorphococcus fritschii* Crow (Chlorophyta, Chlorococcales) from India. *Phykos* 24: 33-34.

VARIATIONS OF THE ULTRASTRUCTURE OF *PROTOTHECA WICKERHAMII* (CHLOROCOCCALES, CHLOROPHYCEAE) PLASTID ACCORDING TO THE CARBON NUTRITION

Françoise PUEL[1] [2] and Georges GIRAUD[1]

(1) Laboratoire des biomembranes et surfaces cellulaires végétales, UA CNRS 311, ENS, 46 rue d'Ulm, 75231 Paris, France.
(2) Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine de Créteil, 6 rue du Général Sarrail, 94010 Créteil, France.

ABSTRACT - Two morphologically different strains of *Prototheca wickerhamii* were studied with different sources of carbon compounds. The two strains were able to use glucose and glycerol, but with mannose, hexadecane and pentane the growth was slow and the store substances were rare or absent. Thus the diversity of the plastid structure is revealed that permits comparison with other algae and knowledge of its functional potentialities. In certain cases microtubule-like and paracristalline structures appeared: their significance is discussed.

RÉSUMÉ - L'assimilation de sources de carbone variées a été étudiée pour deux souches de *Prototheca wickerhamii* différant par leurs caractères morphologiques. Les deux souches utilisent le glucose et le glycérol, mais avec le mannose, l'hexadecane et le pentane leur croissance est lente et leurs réserves sont rares ou absentes. Ces variations dans le métabolisme ont permis de mettre en évidence la variabilité de la structure du plaste, de le comparer à celui d'autres algues et de comprendre son fonctionnement. Dans certains cas des microtubules et des structures paracristallines apparaissent: leur signification est discutée.

KEY WORDS : Parasitic alga, *Prototheca wickerhamii*, plastid ultrastructure, carbon starvation, protein stores.

INTRODUCTION

Whereas physiological studies on *Prototheca* are being made in a large number of laboratories, very little cytological research has been made. This is probably due to the difficulty experienced in fixing the cells which contain a resistant biopolymer "sporopollenin - like" (Puel *et al.*, 1987) and to the diameter of the cells (about 10μm). The genus *Prototheca* comprises four species (Pore, 1985): *Prototheca zopfii* Krüg., *P. wickerhamii* Tubaki et Soneda,

P. moriformis Krüg. and *P. stagnora* Cooke but most of the studies have been made on *Prototheca zopfii*. For many years we have been using a strain of *Prototheca wickerhamii* for cytologicall research. This alga grows either on a Sabouraud's medium or an Anderson's medium but on these media rich in carbon and nitrogen, the cells appear to be full of starch granules and various storage granules and it is difficult to locate or even to identify cellular organelles. It seemed interesting to try to modify these culture media by modifying the source of carbon. Thus we could obtain changes in the metabolism of the stores and nutritional shortages as well. Variations of cellular content thus obtained would enable a better observation of organelles. During these experiments we noticed that the plastid morphology varied with changes in carbon source but it still showed many of its functional abilities. It was decided to study these changes. Two morphologically different strains of *P. wickerhamii* were subjected to the same treatment in order to check that the physiological and cytological reactions were similar in both cases, particularly as regards their plastids. In this work we have laid less emphasis on the problem of algae permeability to sugars and on the study of their assimilation in order to classify them and more emphasis on finding the growth conditions which make it possible to compare the fine structure of the organelles whose shapes were distorted by starvation to those of the algae growing on an optimum medium. Attempts were made to describe, in the most propitious conditions, the characteristics of the colourless plastids and to check the persistance of some of their functions.

MATERIALS AND METHODS

The two strains of *P. wickerhamii* which we used were from the culture collection of the Institut Pasteur of Paris (strains 1094-74 and 1202-79). They were grown for two weeks on agar plates incubed at room temperature and in light. The utilization of organic carbon sources was studied in both Sabouraud's and Anderson's media culture (Patni *et al.*, 1974). This last medium has also been used by Pore (1985) who has slightly modified the mineral salts composition and by Kessler (1982) who has tested the organic carbon assimilation of *Prototheca*. The glucose and glycerol of these media were replaced by lactose, saccharose, maltose, mannose at a concentration of 8 g/l or by pentane and hexadecane at a concentration of 1%. These organic carbon compounds were selected so as to compare our results with those of authors who have used them either to classify them or to observe their metabolic pathway (Kessler, 1982; Pore, 1985). We have used also pentane and hexadecane as many authors (Koenig, 1983, 1984; Pore, 1983; Walker *et al.*, 1975, 1978) have studied the hydrocarbon degradation by the algae of the *Prototheca* genus. Sabouraud's and Anderson's media without organic carbon source have been designated S° and A°. Cells were prepared for electron microscopy by technique previously described (Puel *et al.*, 1982) and photomicrogra en with the Philips 400 electron microscope.

RESULTS

According to the medium used the appearance of the plastid varies. Both strains of *P. wickerhamii* are able to utilize glucose and glycerol but not many other sources of carbon for growth, according to Kessler's results (1982). The culture medium S° supports the growth of both strains with no-nutilisable sugars. We found that peptone used without organic carbon compounds can serve as a source of nitrogen and carbon as well. As the energy output is weak, growth is reduced and no storage granules can be observed.

The culture medium A° without organic compound (ammonium chlorid was used as the source of nitrogen) cannot support the growth of either strain of *Prototheca*. Thus this medium makes it possible to test the penetration of organic carbon into the algae.

The two strains grew well with glucose and glycerol and more slowly with mannose. On the other hand their behaviour differs with hydrocarbons: strain 1 grew slowly while strain 2 grew relatively well on hexadecane. With pentane strain 1 grew slowly and strain 2 did not develop.These variations in the development of the cells provoked the following cytological modifications.

1. The plastid of *Prototheca* in Anderson's medium

A. Plastid with starch

Strain 1 with glycerol and mannose.

Strain 2 with glycerol, mannose and hexadecane.

In Anderson's medium with glycerol the plastid is identified by the starch granules which fill it. On each micrograph there are many profiles of the organelle which mean that either there are many plastids or that the plastid has many lobes. The stroma may be seen between the starch granules, it contains stratified lamellar structures more or less joined (Fig. 1). These recall the "microtubule-like" structures described by Pickett-Heaps (1968) in algae chloroplastids or by Lawrence (1984) in spinach plastids. The two strains show similar appearence. In culture medium A° with mannose the growth of the two strains differ from one another but the cells have the same appearance. The number of starch granules decreases and the plastid becomes very deformed, it lengthens and swells at the ends where several starch granules can be seen. Here again microtubule-like structures are to be found in the stroma between the starch granules (Fig. 3). In A° supplemented by hexadecane, only the strain 2 grows relatively well and produces starch granules (Fig. 5).

B. Plastid without starch

Strain 1 with hexadecane and pentane

With hexadecane or pentane strain 1 grows slowly, its plastid lengthens and swells at both ends and becomes tubular in the middle, it contains no starch granules (Figs. 2 et 4).

2. The plastid of *Prototheca* in Sabouraud's medium

Micrographs of thin sections from algae cultivated in Sabouraud's medium show the presence of plastids full of starch granules similar to those from algae cultivated in Anderson's medium. In S° medium the plastids are more deformed than in the previous cases, the swollen parts with irregular sizes never contains starch granules and are connected by long and twisted peduncles. In the stroma there are dense paracristalline formations either as a network or in flake, which look like protein storage accumulations, their presence is constant in the plastids. Accumulation occurs in the medium of the swollen portions (Figs. 7, 8, 9, 10, 11). The microtubule-like structures are seen again (Figs. 7, 9, 11).

DISCUSSION

Anderson's and Sabouraud's media have been designed for different purposes. The first may be considered as derived from a medium used for photosynthetic algae in heterotrophic conditions (*Chlorella* for example). The second is derived from a medium for strict heterotrophic organisms (fungi or bacteria), and in particular the source of nitrogen is an organic compound: peptone. On these media with easily digested sugars, the quick growth always is associated with prominent starch granule accumulation in the plastid of *Prototheca* which becomes obscured and the stroma is completely concealed. The sources of organic compounds, supporting a weaker growth (mannose, pentane, hexadecane), make for a better observation of the plastidial profiles and the cellular organelles possible. When the stroma is seen, paracristalline formations are found; they recall the structures of protein stores which are often seen in the store cells of angiosperm seeds (Lemoine, 1966). These structures are not really microtubule-like but form complex paracristalline structures. These formations are characteristic of the cells which grow in S° medium. The peptone in the medium causes a rather reduced carbon nutrition which does not produce the starch synthesis, but an accumulation of amino acids and they form these figures. Thus the plastid maintains a double function: it acts as starch store which proves the presence of functional enzymatic systems in it but it may also serve as protein stores. This function is also to be found in the proplastids of the higher plants (Buvat, 1963) and in the red algae (Giraud *et al.*, 1983).

Newcomb (1967) finds, in addition to the formations described above, microtubular profiles which he compares to the prolamellar body that has been seen in some algae (Pickett-Heaps, 1968). On the other hand many authors (Rivera, 1982; Lawrence, 1984) have described amoeboid plastids containing microtubule-like structures. This aspect is sometimes considered as juvenile. The structures observed here may be thought to be microtubule-like particularly the peripherical microtubules. Then, the carbon starvation could be said to cause a regression of these plastids towards a state similar to proplastids. The stretched appearance with swollen ends exists in many higher plants in deficiency conditions particularly in mutants (Sprey *et al.*, 1965, 1966; Valanne *et al.*, 1972). One may think either that the plastid has some difficulty in dividing and thus forms diverticules or that the absence of

starch synthesis and renewal of stroma cause a collapse in the plastids which still conserves a big plastidial membrane. We have noticed that these cytological modifications are reversible.

Our observations about the utilization of different carbon sources for the growth of these two strains differ from those of some authors. Kessler (1982) finds that mannose does not support the growth of *P. wickerhamii* and Walker (1978) and Pore (1983) state an absence of n-alkane metabolisation. Differences in the growth and appearance between two strains have already been observed (Kessler, 1982; Pore, 1985), they are the results of the heterogeneity of the organism without sexual reproduction and they make it difficult to generalise about the phylogenetic relationships using the studied characteristics.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors thank Professor R.S. Bray for his support.

REFERENCES

BUVAT R., 1963 - Electron microscopy of plant protoplasm. *Int. Rev. Cytol.* 14: 141-145.

GIRAUD G. & CABIOCH J., 1983 - Inclusions cytoplasmiques remarquables chez les corallinacées. *Ann. Sci. Nat. Bot. (Paris)* 5: 29-43.

KESSLER E., 1982 - Physiological and biochemical contributions to the taxonomy of the genus *Prototheca. Arch. Microbiol.* 132: 103-106.

KOENIG D.W. & WARD H.B., 1983 - *Prototheca zopfii* Krüger strain UMK-13 growth on acetate or n-alkanes. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 333-336.

KOENIG D.W. & WARD H.B., 1984 - Growth of *Prototheca zopfii* Krüger on crude-oil as a function of pH,temperature, and salinity. *Syst. Appl. Microbiol.* 5: 119-123.

LAWRENCE M.E. & POSSINGHAM J.V., 1984 - Observations of microtubule-like structures within spinach plastids. *Biol. Cell.* 52: 77-82.

LEMOINE Y., 1966 - Sur l'existence de structures paracristallines ou fibreuses dans le stroma des chloroplastes de Haricot *(Phaseolus vulgaris). Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 263: 105-108.

NEWCOMB E.H., 1967 - Fine structure of protein-storing plastids in bean root tips. *J. Cell Biol.* 33: 143-163.

PATNI N.J. & AARONSON S., 1974 - The nutrition, resistance to antibiotics and ultrastructure of *Prototheca wickerhamii. J. Gen. Microbiol.* 83: 179-182.

PICKETT-HEAPS J.D., 1968 - Microtubule-like structures in the growing plastids or chloroplasts of two algae. *Planta* 86: 186-194.

PORE R.S., 1983 - *Prototheca* ecology. *Mycopathologia* 81: 49-62.

PORE R.S., 1985 - *Prototheca* taxonomy. *Mycopathologia* 90: 130-139.

PUEL F. & GIRAUD G., 1982 - Etude ultrastructurale de *Prototheca wickerhamii.* Variations observées au cours du cycle cellulaire. *Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Veg.* 4: 15-26.

PUEL F., LARGEAU C. & GIRAUD G., 1987 - Occurrence of a resistant biopolymer in the outer walls of the parasitic alga *Prototheca wickerhamii* (Chlorococcales): ultrastructural and chemical studies. *J. Phycol.* 23: 649-656.

RIVERA E.R., 1982 - Tubular structures in the plastids of *Echinomastus intertextus*. Brit and Rose (Cactaceae). *New Phytol.* 90: 551-561.

SPREY B. & KAJA H., 1965 - Zum form und funktionswechsel ergrünnender plastiden von *Tradescantia albiflora*. *Z. Pflanzenphysiol.* 53: 140-156.

SPREY B. & WEINERT H., 1966 - Beiträge zur formvariabilität von plastidengrenzduchten. *Z. Naturf.* 21: 72-73.

VALANNE N. & VALANNE T., 1972 - Structure of plastids of a variegated *Betula pubescens* mutant. *Canad. J. Bot.* 50: 1835-1839.

WALKER J.D., COLWELL R.R. & PETRAKIS L., 1975 - Degradation of petroleum by an alga, *Prototheca zopfii*. *Appl. Microbiol.* 30: 79-81.

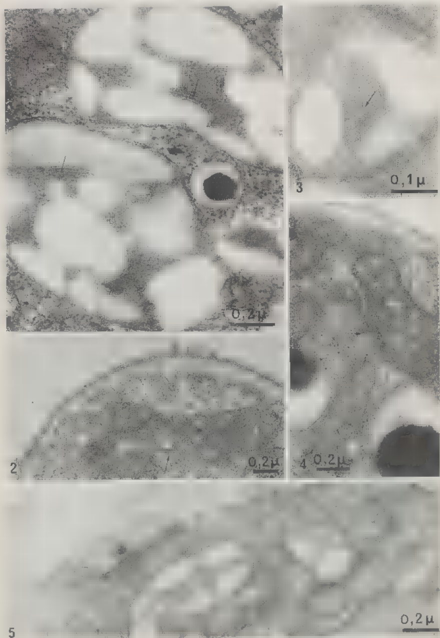
WALKER J.D. & PORE R.S., 1978 - Growth of *Prototheca* isolates on n-hexadecane and mixed hydrocarbon substrate. *Appl. and Environ. Microbiol.* 35: 694-697.

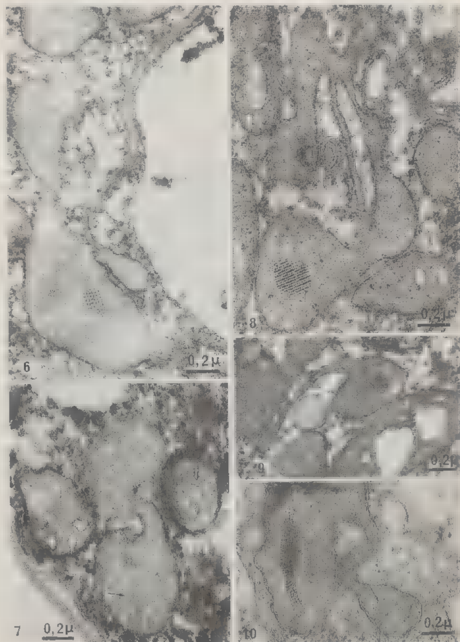
LÉGENDES DES PLANCHES

Fig. 1: Plastid of a cell grown in Anderson's medium. The plastid is full of starch granules. The stroma contains stratified lamellar structures (arrows). (Scale bar: 0,2μm). - Fig. 3: Plastid of a cell grown in A° medium with mannose. The plastid becomes very deformed, several starch granules are seen. In the stroma microtubule-like structures are to be found (arrow). (Scale bar: 0,1μm). - Fig. 2 and 5: Plastids of strains 1 and 2 grown in A° medium with hexadecane. The plastids of the strain 2 are not deformed and contains starch granules (Fig. 5). These of strain 1 are tubular in the middle (arrow) and swollen at the two ends, they do not contain starch granules (Fig. 2). (Scale bar: 0,2μm). - Fig. 4: Plastid of a strain 1 grown in A° medium with pentane. The plastid is lengthened and does not contain starch granules (arrow). (Scale bar: 0,2μm).

Figs 6, 7, 8, 9, 10: Plastids of the strains 1 and 2 in S° medium. The plastids are very deformed, the swollen portions with irregular sizes do not contain starch granules and are connected by long and twisted peduncles. In the stroma there are dense paracristalline formations; their appearance is different, due to the orientation of the sections. The microtubule-like structures are also seen again (arrow). (Scale bar: 0,2μm).

Figs 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10: Fixation glutaraldehyde, osmium tetroxide, uranyl acetate. Staining: uranyl acetate, lead.


0,2 µ
2
0,2 µ
3
0,1 µ
4
0,2 µ
5
0,2 µ


6
0,2 μ
7
0,2 μ
8
0,2 μ
9
0,2 μ
10
0,2 μ

SYSTEMATIC AND BIOGEOGRAPHIC STUDIES OF CHAROPHYTES IN YUGOSLAVIA

Jelena BLAZENCIC*, Zivojin BLAZENCIC**, Mirko CVIJAN* and Branka STEVANOVIC*

*Institute of Botany, Faculty of Biology - University of Belgrade, 11 000 Belgrade, Takovska 43, Yugoslavia.
**Faculty Veterinary Medicine - University of Belgrade, 11 000 Belgrade, Bulevar JNA 18, Yugoslavia.

ABSTRACT - Charophytes are widespread and floristically abundant through the different regions of Yugoslavia. They inhabit fresh, salt, brackish, and mineral waters, with preference for stagnant water. The 37 so far recorded species include the following: 9 species of the genus *Nitella*, 5 species of the genus *Tolypella*, one species of each of the genera *Nitellopsis*, *Lamprothamnium* and *Lychnothamnus*, and 20 species of the genus *Chara*. The majority of charophytes in Yugoslavia belongs to the cosmopolitan and subcosmopolitan floristic group (nearly 50%) while all the other species have predominantly Mediterranean, Euroasian and European distribution.

RÉSUMÉ - Les charophytes sont répandues dans les différentes régions de la Yougoslavie. Elles peuplent les eaux douces, salées, saumâtres et minérales, de préférences stagnantes. Leur flore, riche actuellement de 37 espèces comprend 9 espèces du genre *Nitella*, 5 espèces du genre *Tolypella*, une espèce du genre *Nitellopsis*, une espèce du genre *Lamprothamnium*, une espèce du genre *Lychnothamnus* et 20 espèces du genre *Chara*. La majorité des charophytes en Yougoslavie appartient au cortège floristique cosmopolite et subcosmopolite (presque 50%), alors que toutes les autres espèces ont une distribution principalement méditerranéenne, euro-asiatique et européenne.

KEY WORDS : *Charophyta*, systematics, phytogeography, chorology, Yugoslavia.

INTRODUCTION

Charophytes of Yugoslavia territory are first mentioned in 1842 (Visiani,1842). Since then, the data appear in the works of a great number of botanists and hydrobiologists. The most important sources on the flora, systematics, distributions and ecology of charophytes are the studies of Kosanin (1907), Vilhelm (1908, 1913, 1922), Filarszky (1931), Kostic (1936), Tortic-Njegovan (1956), Golubic (1960), Petrovska (1963), Blazencic (1980, 1984) and Blazencic *et al.* (1980, 1982, 1983a, 1983b, 1986). Charophytes

are widespread and very important elements of aquatic ecosystems in Yugoslavia. They inhabit fresh, salt, brackish and mineral waters. Their preference is for the stagnant or slowly running waters along the seashore and in aquatic localities at different altitudes, reaching the mountain lakes at 2000m.

These aquatic habitats are of neutral or weakly alkaline reaction as could be expected of the limestone bedrock setting.

This study represents the first complete survey of systematic, chorological and ecological characteristics of charophytes of the entire territory of Yugoslavia.

MATERIAL AND METHODS

Charophytes were collected throughout the entire Yugoslav territory. More than 250 localities were studied, and about 90 of them were mountain lakes. The studies were conducted using the methods of transects and or transverse profiles. Specimens of algae were fixed in 4% formalin, and this plant material is included in the collection of the Botanical Institute and Garden in Belgrade. The data collected for each locality comprised: the air and water temperature, the depth of water of which charophytes extend, water transparency, chemical analysis of water, as well as the register of vascular plants found in associations with charophytes.

RESULTS AND DISCUSSION

Our own investigations and the literature data record 37 species of charophytes in Yugoslavia flora: 9 species of the genus *Nitella*, 5 species of the genus *Tolypella*, one species of each of the genera *Nitellopsis*, *Lamprothamnium* and *Lychnothamnus* and 20 specie of the genus *Chara*:

- *Nitella syncarpa* (Thuill.) Chev., *N. capillaris* (Krock.) Gr. et B-W., *N. opaca* (Bruz.) Ag., *N. flexilis* (L.) Ag., *N. mucronata* (A.Br.) Miquel, *N. brachyteles* A. Br., *N. batrachosperma* (Reich.) A. Br., *N. gracilis* (Smith) Ag., *N. hyalina* (D.C.) Ag.*

- *Tolypella prolifera* (A.Br.) Leonh.*, *T. intricata* (Roth.) Leonh.*, *T. glomerata* (Desv.) Leonh., *T. nidifica* (O. Müll.) Leonh., *T. hispanica* Nordst.*

- *Nitellopsis obtusa* (Desv.) Gr.

- *Lamprothamnium papulosum* (Wallr.) Gr.

- *Lychnothamnus barbatus* (Meyen) Leonh.

- *Chara braunii* Gmel., *Ch. tomentosa* L., *Ch. denuda* A.Br.*, *Ch. contraria* (A.Br.) T.F. Allen, *Ch. strigosa* A. Br., *Ch. aculeolata* Kütz, *Ch. polyacantha*, A.Br., *Ch. gymnophylla* A.Br., *Ch. vulgaris* L., *Ch. rudis* A.Br., *Ch.*

---

* Species cited only in literature data.



Fig. 1-4: Distribution of charophytes in Yugoslavia. Fig. 1: *Tolypella prolifera* (c), *T. intricata* (r), *T. nidifica* (v), *T. hispanica* (o), *T. glomerata* (u). Fig. 2: *Nitellopsis obtusa* (c), *Lamprothamnium papulosum* (v), *Lychnothamnus barbatus* (s), *Chara imperfecta* (x), *Ch. kokeilii* (o). Fig. 3: *Nitella syncarpa* (v), *N. capillaris* (s), *N. opaca* (c), *N. flexilis* (o). Fig. 4: *N. mucronata* (c), *N. brachyteles* (s), *N. batrachosperma* (o), *N. gracilis* (v), *N. hyalina* (u). *Chara rohlenae* (z).

hispida L., *Ch. aspera* Deth., *Ch. tenuispina*, A.Br., *Ch. connivens* Salzm., *Ch. globularis* Thuill., *Ch. delicatula* Ag., *Ch. rohlenae* Vilh., *Ch. kokeilii* A. Br., *Ch. rabenhorstii* A.Br., *Ch. imperfecta* A. Br.*

The number of charophytic species in different european countries varies from 11 in Rumania to 35 species in France (Table 1). In total, 42 species of charophytes are found to be present in the whole of Europa (Coril-

* Species cited only in literature data.

lion, 1975). In this respect, the 37 charophytes recorded so far in Yugoslavia represent a remarkably rich and heterogeneous charophytic flora in this country. A number of favourable conditions could account for the floristic richiness of this flora: Yugoslavia lies on a calcareous bedrock, it is subject to different climatic conditions (mediterranean, continental, high mountain), and has, therefore, a number of varied aquatic ecosystems.

Country	Number of species	References
Rumania	11	Ionescu V., 1974
Bulgaria	18	Vodenicarov D., 1963
Norway	21	Langangen A., 1974
Great Britain and Ireland	25	Moore J. 1986
Poland	28	Dambska I., 1964
Spain	30	Comelles M., 1982
France	35	Corillion R., 1975
Yugoslavia	37	Blazencic et al., 1989
Soviet Union (included European and Asian parts)	64	Gollerbah M.M., Krasavina L.K., 1963

Table I - Number of charophytes in different European countries

The widely distributed species are: *Chara vulgaris*, *Ch. contraria*, *Ch. globularis* (fig. 8), *Ch. delicatula*, *Ch. aspera* (fig. 7) and *Nitella opaca* (fig. 3). Among these, *Chara vulgaris* and *Ch. contraria* are found at more than 150 localities. Other species, as are *Ch. aculeolata* (fig. 5), *Nitellopsis obtusa* and some species of the genus *Tolypella*, are less numerous and present on fewer localities (figs. 1-2). The scarcity of these species could be due to two reasons: some of them are truly rare even in the floras of other countries, and, moreover, not all yugoslav regions are sufficiently investigated until now, in terms of charophytes distribution.

The very rare species are *Nitella brachyteles* (fig. 4), *Chara strigosa* (fig. 5), *Ch. kokeilii* (fig. 2) and endemic *Ch. rohlenae* (fig. 4).

The analysis of floristic elements demonstrated, as expected, the prevalence of cosmopolitan and semi(sub)cosmopolitan species, accounting for nearly 50% of the entire flora: the additional 27% are northern and continental species (circumboreal, euroasian and middle-european). Together, these account for 77% of the entire charophytic flora of Yugoslavia (Fig. 9). Mediterranean and subatlantic species make nearly 20% of this flora, due to Yugoslavia mediterranean coast. One endemic species *(Chara rohlenae)*, present in the charophytic flora of Yugoslavia, points to the fact that Yugoslav territory and the Balkans in general were a refuge not only to terrestrial, but also to aquatic (freshwater) flora, being, at the same time, an important region of the glacial-postglacial speciation.

CONCLUSION

The study presents the inventory of charophytes in Yugoslavia together with their ecological characters. The inventory is based on the literature data

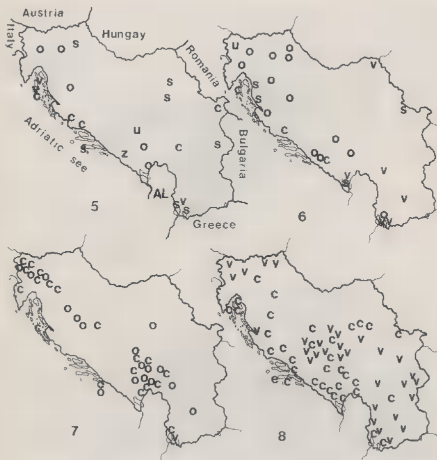


Fig. 5-8: Distribution of charophytes in Yugoslavia. Fig. 5: *Chara braunii* (s), *Ch. tomentosa* (v), *Ch. strigosa* (u), *Ch. aculeolata* (c), *Ch. rudis* (o), *Ch. rabenhorstii* (z). Fig. 6: *Ch. denudata* (u), *Ch. polyacantha* (c), *Ch. hispida* (o), *Ch. tenuispina* (v), *Ch. connivens* (s). Fig. 7: *Ch. aspera* (c), *Ch. delicatula* (o), *Ch. imperfecta* (v). Fig. 8: *Ch. globularis* (c), *Ch. gymnophila* (v).

and on our own field investigations. It brings the total number of charophytes in Yugoslavia to 37 species. The following 5 species: *Nitella brachyteles*, *Tolypella glomerata*, *Nitellopsis obtusa*, *Lamprothamnium papulosum* and *Chara strigosa* are for the first time included in such an inventory.

Charophytes were found in different aquatic habitats, in fresh, salt, brackish, and mineral waters, on the localities varying from cryptodepression to high mountain sites of 2000m altitude.

The majority of charophytes in Yugoslavia belongs to cosmopolitan floristic elements - nearly 50%.

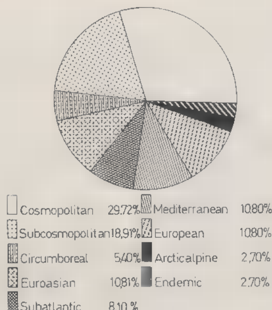


Fig. 9: Chorological spectrum of charophytes present in Yugoslav flora.

In shallow aquatic habitats, or near the lake shores, charophytes are usually found in mixed populations with vascular aquatic plants, predominantly with the species belonging to *Potamogeton* genus. Pure charophytic populations overgrow the bottom of the deeper lakes where they form the lower limit of macrophytes distribution. The deepest level to which charophytes grow is still at 36 m in the lake Vrana (island of Cres) as established by Golubic (1960).

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Mrs. Dr. Micheline Guerlesquin, from Université Catholique de l'Ouest, Angers, France, for her valuable comments on the manuscript. The expert technical help of Mrs. Slobodanka Cukovic is greatly appreciated.

REFERENCES

BLAZENCIC J. & CVIJAN M., 1980 - *Nitellopsis* Hy (*Tolypellopsis* Mig.) - novi rod za floru Jugoslavije iz razdela *Charophyta*. Glas. Republ. zavoda zast. prirode - *Prirodnjackog muzeja Titograd* 13: 7-13.

BLAZENCIC J., 1980 - Contribution to the study of distribution and ecology of species of the genus *Chara* in Serbia. *Glasnik Prirodnjackog muzeja*, Ser. B 35: 102-105.

BLAZENCIC J., RADOTIC S., 1982 - Prsljencica (*Chara vulgaris* L.) i karakteristike njenih stanista u okolini Kragujevca. *Glasnik Inst. za botaniki i Bot. baste Univ. u Beogradu* XV: 37-42.

BLAZENCIC J. & BLAZENCIC Z., 1983a - *Lychnothamnus* (Rupr.) v. Leonh. (Characeae), a new genus to the flora of Yugoslavia. *Acta Bot. Croat.* 42: 95-101.

BLAZENCIC J. & BLAZENCIC Z., 1983b - Fitocenoloska studija zajednica *Charetum fragilis* Corillion 1957 i *Chareto-Nitellopsidetum obtusae* ass. nova kod Plavnice na Skadarskom jezeru. *Glasnik Republ. zavoda zastite prirode - Prirodnajckog muzeja Titograd* 16: 7-13.

BLAZENCIC J., 1984 - Rasprostranjenje i ekologija vrste *Nitella gracilis* (Smith) Ag. (*Nitellaceae*) u Jugoslaviji. *Glasnik Inst. za botaniku i Bot. baste Univerziteta u Beogradu* XVIII: 31-36.

BLAZENCIC J. & BLAZENCIC Z., 1986 - Flora i vegetacija algi razdela *Charophyta* u planinskim jezerima Crne Gore. I. Prsljencice (Charophyta) u jezerima Prokletija i Visitora. *Glasnik Odeljenja prirodnih nauka CANU* 5: 187-203.

COMELLES M., 1982 - *Noves localitats i revisió de la distribució de les espècies de carofits a Espanya.* Ph. Thesis Universitat Central de Barcelona, Fac. de Biologia, Spain.

CORILLION R., 1975 - *Flore et végétation du massif Armoricain. IV. Flore des Charophytes (Characées) du massif Armoricain et des contrées voisines d'Europe occidentale.* Paris, 1-216.

DAMBSKA I., 1964 - *Flora slodkowodna polski 13: Charophyta - Ramienice.* Polska akademia nauk. Warszawa, 1-125.

FILARSZKY N., 1931 - Beitrage zur Kenntnis der Charenvegetation Kroatien-Slavonien und einiger Lander der Balkan-Halbinsel. *Ungarische Bot. Blatter* I. 12: 6-99.

GOLLERBAH M.M. & KRASAVINA L.K., 1983 - *Opredelitel presnovodnih vodoroslej SSSR 14: Harovie vodorosli - Charophyta.* "Nauka" Leningrad, 1-189.

GOLUBIC S., 1960 - Prethodna istrazivanja vegetacije jezera Vrane na otoku Cresu. *Krs Jugoslavije* 2: 295-297.

IONESCU V., 1974 - Contributions to the knowledge of the Characeae from Rumania. *Acta Bot. horti Bucurstiensis:* 191-197.

KOSTIC Lj., 1936 - Prinos poznavanju haraceja Ohridskog jezera i okoline. *Acta Bot. Instituti Bot. Univ. Zagrebensis* XI: 63-84.

KOSANIN N., 1907 - Characeen Serbiens. *Österr. Bot. Zeitschr.* LVII: 280-282.

LANGANGEN A., 1974 - Ecology and distribution of Norwegian charophytes. *Norw. J. Bot.* 21: 31-52.

MOORE J.A., 1986 - *Charophytes of Great Britain and Ireland.* Bot. Soc. of the British isles, London, handbook n° 5, 1-140.

PETROVSKA Lj., 1963 - Prilog za poznavanje na haraceite na skopska kotlina. *Godisen zbornik PMF Univ. vo Skopje* 14/11: 185-188.

TORTIC-NJEGOVAN M., 1956 - *Chara gymnophyla* i neke druge haraceje Jugoslavije. *Acta Bot. Zagreb.* 14-15: 145-162.

VILHELM J., 1908 - Ein Beitrag zur Kenntnis der Charophytenflora von Bulgarien, Montenegro und der Athos-Halbinsel. *Hedwigia* 47: 66-70.

VILHELM J., 1913 - Zweiter Beitrag zur Kenntnis der Charophytenflora von Montenegro und Bulgarien. *Hedwigia* 53: 23-35.

VILHELM J., 1922 - Troisième compte-rendu sur les Charophytes balcaniques. *Acta Bot. Bohemica* 1: 56-66.

VISIANI R., 1842 - *Flora Dalmatica.* Lipsiae.

VODENICAROV D., 1963 - Prinosi km geografijata na vodoroslite. I. Razprostranenie na harovite vodorasli (Charophyceae) v Bulgarija. *Trudove na vissija pedagogiceski institut Plovdiv Biol.* 1: 89-94.

ÉTUDE CHIMIQUE ET SPECTROSCOPIQUE DES PHYCOCOLLOÏDES EXTRAITS DE *DILSEA CARNOSA* (RHODOPHYCÉE, CRYPTONÉMIALE).

Mustapha ZINOUN, Eric DESLANDES et Joël COSSON

Laboratoire d'Algologie fondamentale et appliquée
39, rue Desmoueux, 14000 Caen (France)

RÉSUMÉ - Les phycocolloïdes de *Dilsea carnosa* ont été étudiés par des méthodes chimiques et spectroscopiques (IR et RMN). Cette étude montre l'hétérogénéité de la paroi de cette algue avec l'existence d'un carraghénane majoritaire de type lambda partiellement désulfaté et d'une fraction minoritaire à propriété gélifiante. L'extrait renferme par ailleurs une fraction méthylée ainsi qu'un polysaccharide neutre de réserve: l'amidon floridéen.

ABSTRACT - Chemical and spectroscopic methods (IR and NMR-spectroscopy) were used to identify the phycocolloids of *Dilsea carnosa*. Our study shows the cell wall of this alga is heterogenous with a partly desulfated lambda-carrageenan as the major component and a minor component with gelling properties. The extract also contained a methylated fraction and a neutral polysaccharid identified as floridean starch.

MOTS CLÉS : Carraghénanes, *Dilsea carnosa*, Rhodophycées, RMN, IR.

INTRODUCTION

Dilsea carnosa (Schmidel) Kuntze, est une algue fréquemment rencontrée sur les côtes de la Manche dans les cuvettes exposées de l'étage médio-littoral et dans l'infralittoral.

Dès 1945, Barry & Dillon, puis Barry & McCormick (1957) ont étudié la composition chimique de cette espèce et en particulier les mucilages qui renferment selon eux du D-galactose, du D-xylose, de l'acide glucuronique, des sulfates et des traces de 3,6-anhydrogalactose. En 1959, Peat *et al.* mettent en évidence l'existence d'un polysaccharide neutre de réserve appelé amidon floridéen ("floridean starch") et caractérisé par l'existence de liaisons α(1-4) et α(1-3) glucosidiques; par contre, l'étude des polysaccharides pariétaux de *Dilsea carnosa* n'a jamais été achevée. Aussi avons-nous, dans le cadre plus général de la recherche de nouvelles sources de phycocolloïdes, entrepris l'étude par des méthodes biochimiques et spectroscopiques des phycocolloïdes extraits de *Dilsea carnosa* récoltée en Basse-Normandie.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les algues ont été récoltées au Cap Lévy (Manche) de janvier à mai 1989; les thalles, triés, débarrassés des épiphytes, lavés à l'eau douce pendant 5 minutes, sont traitées par l'acétone et l'éthanol pour éliminer les pigments et la fraction organosoluble.

Après séchage à 60°C pendant 16h, les algues sont réduites en poudre avec un broyeur à billes. L'extraction des phycocolloïdes est réalisée selon la méthode préconisée par Bellion *et al.* (1983). Les polysaccharides sont précipités sélectivement selon le protocole de Craigie & Leigh (1978).

Les glucides totaux sont dosés selon Dubois *et al.* (1956), le 3,6-anhydrogalactose par la méthode au résorcinol de Yaphe & Arsenault (1965), les sulfates par la méthode turbido métrique de Jackson & McCandless (1978) et la transformation alcaline selon la méthode de Rees (1961).

La composition en sucres monomères a été établie par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil Perkin-Elmer type 8500, équipé d'une colonne en verre (1,8m 1/8), support 3% de SP. 2340 sur Supelcoport 100/200 mesh à 210°C, l'inositol étant l'étalon interne; les dérivés acétylés sont identifiés par un détecteur à ionisation de flamme.

Les spectres infra-rouges ont été enregistrés par un spectromètre (Nicolet-Analytical Instrument Ms 60 en transformé de Fourier). Les échantillons sont présentés sous forme de pastilles de 16mm de diamètre, obtenues sous pression et diluées auparavant dans du KBr. Les spectres RMN du ^{13}C ont été réalisés sur un spectromètre Brucker AC 300 à 75,45MHz à 80°C, les dilutions des échantillons étant de 20 à 30mg/ml de D_2O. Les déplacements chimiques (ppm) sont mesurés par rapport à l'étalon interne TSP (Tetra-deutero-trimethylsilyl) et convertis à l'étalon externe TMS (Tetramethyl silane).

L'hydrolyse enzymatique est réalisée par des amylases (EC.3.2.1.1) et des dextrinases (EC.3.2.1.11) fournies par Sigma SA.

RÉSULTATS

1. Dosage et analyses chimiques

Le rendement en phycocolloïdes, après extraction totale, est de 30% (±3) par rapport à la masse de matière sèche. La composition en sucres, avant et après purification par voie enzymatique, est donnée dans le tableau 1.

Cette analyse révèle la présence de galactose comme sucre majoritaire, les autres sucres étant faiblement représentés. La teneur en glucose augmente de février (5%) à mai (15%). Cette augmentation printanière peut être attribuée à une reprise importante de l'activité photosynthétique de l'algue conduisant à la production d'amidon floridéen.

	Galactose	Glucose	Xylose	6-0-Me -D.galactose
Sans traitement enzymatique	75	12,44	3,7	7,6
Avec traitement enzymatique	86,6	Traces	3,5	7,5

Tableau I - Composition en sucre de l'extrait total de *Dilsea carnosa* avant et après hydrolyse enzymatique de l'amidon floridéen (les valeurs sont exprimées en % de la masse de sucres avec une erreur moyenne de 5%).

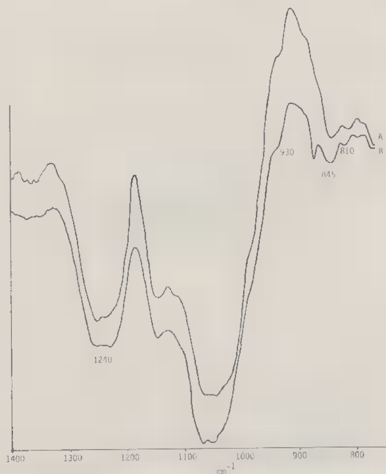


Fig. 1 - Spectre infra-rouge de l'extrait de *Dilsea carnosa:* A: extraction totale. B: après transformation alcaline.

L'extrait présente un pouvoir rotatoire positif

$$[\alpha]_D^{20} + 60,$$

ce qui confère une configuration D au sucre majoritaire (D. galactose). La teneur en sulfates de l'extrait est de 22% par rapport à la masse de l'extrait sec et celle de 3,6-anhydrogalactose est de 7%. En raison de ces constatations, le polysaccharide de *Dilsea carnosa* serait un carraghénane.

2. Étude en spectroscopie infrarouge

Le spectre IR (Fig. 1) de l'extrait total de *Dilsea carnosa* est caractérisé par une large bande à 1240 cm^{-1} (vibration du S=O du SO_4), un épaulement à 930 cm^{-1} (vibration du pont 3,6-anhydrogalactose), une bande à 850 cm^{-1} (vibration C-O-S de SO_4 en C_4 du beta D-galactose) et une bande plus faible à 810 cm^{-1} (vibration C-O-S de SO_4 en C_6).

Ce spectre infrarouge est proche de celui obtenu sur un extrait de *Grateloupia filicina* par Zablakis *et al.* (1990) et qui leur permet d'affirmer qu'il ne s'agit pas d'un véritable carraghénane lambda.

Après hydrolyse alcaline on ne note aucune modification significative du spectre, ce qui traduit l'absence de formation de pont 3-6-anhydro sur la molécule du galactose. Cette observation est en contradiction avec les résultats de Rees (1961).

3. Étude en résonnance magnétique nucléaire du ^{13}C

Avant de réaliser l'étude du polysaccharide en RMN du ^{13}C, il est nécessaire de traiter la fraction à analyser par voie enzymatique, afin d'hydrolyser l'amidon floridéen et de le séparer du carraghénane.

Après action des enzymes, les carraghénanes sont précipités dans un double volume d'éthanol à 95°, alors que les produits d'hydrolyse passent en solution. Le précipité est récupéré par centrifugation à 5000g pendant 30 minutes.

La fraction soluble dans l'alcool est récupérée par évaporation du solvant et la teneur en glucose mesurée par le système glucose-oxydase/peroxydase.

Le spectre RMN du ^{13}C (Figs 2 et 3) des polysaccharides pariétaux met en évidence au moins deux structures:

* la structure lambda caractérisée par $C1\alpha$ et $C1\beta$ des carbones anomères du galactose (Fig. 2). Cette structure est analogue à celle retrouvée chez *Kallymenia reniformis* (Deslandes *et al.*, 1989);

* dans la région de 95 à 105ppm, il y a apparition de 2 pics, X: 104, 5 et Y: 95,8, caractéristiques des mu-carraghénanes précurseurs du kappa-carraghénane selon Bellion *et al.* (1983).

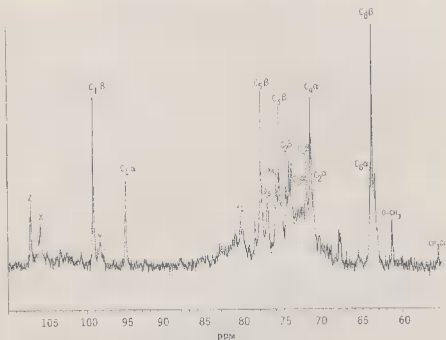


Fig. 2 - Spectre RMN du ^{13}C de l'extrait total de *Dilsea carnosa*.

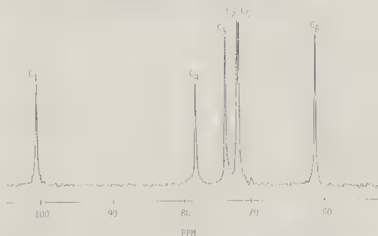


Fig. 3 - Spectre RMN du ^{13}C de l'amidon floridéen extrait de *Dilsea carnosa*.

La structure kappa elle-même n'est pas suffisamment marquée sur ces spectres, la fraction correspondante étant trop peu abondante, proportionnellement aux lambda-carraghénanes, pour être détectée par l'appareil.

Par ailleurs, dans la zone allant de 50 à 60 ppm, il y a apparition d'un pic à 59,1 ppm qui a été attribué à un groupement méthyl (Bellion, 1983).

Dans la zone allant de 70 à 75 ppm, il y a apparition de 3 pics non identifiés qui peuvent être attribués aux perturbations que provoque le groupement méthyl sur les carbones les plus proches de son environnement.

Le spectre RMN du ^{13}C (Fig. 3) de la fraction formée par le polysaccharide neutre de réserve montre la présence d'une seule structure: les valeurs des déplacements chimiques sont proches de celles obtenues par Colson *et al.* (1974) pour l'amylose des végétaux supérieurs.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

D'après O'Colla (1962), le mucilage extrait de *Dilsea carnosa* a été classé comme un polygalactane faiblement sulfaté différent des carraghénanes kappa et lambda.

La présence du D-galactose et la teneur en sulfates supérieure à 20% montrent clairement que le phycocolloïde extrait de *Dilsea carnosa* est un carraghénane. L'étude par spectroscopie RMN du ^{13}C met en évidence d'une part la présence d'un motif de base formé de deux unités galactose (α et β), proche du polygalactane de type lambda extrait de *Kalymenia reniformis* avec cependant un degré de sulfatation relativement faible (22%, au lieu des 30% habituellement reconnus pour un carraghénane de type λ), d'autre part la présence d'une fraction minoritaire partiellement méthylée à propriété gélifiante proche d'une structure de type kappa. Cette hypothèse se trouve confortée par l'existence dans l'extrait total d'un carraghénane précurseur de type mu.

Il restera donc ultérieurement à vérifier cette hypothèse en séparant ces deux fractions. Néanmoins ces premiers résultats montrent à l'évidence l'hétérogénéité de la paroi et du ciment intercellulaire de *Dilsea carnosa*.

REMERCIEMENTS. - Les auteurs remercient M. Brigand de la Société SANOFI-Bio-Industries pour les analyses effectuées en Chromatographie en Phase Gazeuse, ainsi que M.M. Lamotte et Badri du Laboratoire ISMRA de Spectro- chimie de l'Université de Caen pour les analyses effectuées en IR.

BIBLIOGRAPHIE

BARRY V.C. & DILLON T., 1945 - The mucilage of *Dilsea edulis*. *Proc. Roy. Irish Acad.* B 50: 349-354.

BARRY V.C. & McCORMICK J.E., 1957 - Properties of periodate-oxidized polysaccharides. VI: The mucilage from *Dilsea edulis*. *J. Chem. Soc.* 2: 2777-2783.

BELLION C., BRIGAND G., PROME J.C., WELTI D. & BOCIEK S., 1983 - Identification et caractérisation des précurseurs biologiques des carraghénanes par spectroscopie RMN du ^{13}C. *Carbohydr. Res.* 119: 31-38.

COLSON P., JENNINGS H.J. & SMITH I.C.P., 1974 - Composition, sequence and conformation of polymers and oligomers of glucose as revealed by carbon 13 Nuclear Magnetic Resonance. *J. Amer. Chem. Soc.* 96: 8081-8087.

CRAIGIE J.S. & LEIGH C., 1978 - Carraghenans and agars. *In* HELLEBUST, J.A. & CRAIGIE J.S. *"Handbook of Phycological Methods: physiological and biochemical methods"*, Cambridge University Press, pp. 109-131.

DESLANDES E., POTIN P., ZINOUN M. & FLOC'H J.Y., 1989 - Contribution on the content and nature of the phycocolloids from *Kallymenia reniformis* (Turner) J. Agardh. *Proc. 13th Intl. Seaweed Symp., Hydrobiologia* (sous presse).

DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., ROBERS P.A. & SMITH F., 1956 - Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.

JACKSON S.G. & Mc CANDLESS E.L., 1978 - Simple, rapid turbidometric determination of inorganic sulfate and,or protein. *Anal. Biochem.* 90: 802-808.

O'COLLA P.S., 1962 - Mucilages. *In* R.A. LEWIS (Ed.), *Physiology and Biochemistry of Algae*. Academic Press, New York. pp. 337-356.

REES D.A., 1961 - Estimation of the relative amounts of isomeric sulphate esters in some sulphated polysaccharides. *J. Chem. Soc.* 4: 5168-5171.

YAPHE W. & ARSENAULT G.P., 1965 - Improved resorcinol reagent for the determination of fructose and of 3,6 anhydrogalactose in polysaccharides. *Anal. Biochem.*, 13: 143-148.

ZABLACKIS E. & PEREZ J., 1990 - A partially pyruvated carrageenan from hawaiian *Grateloupia filicina* (Cryptonemiales, Rhodophyta). *Bot. Mar.* 33: 273-276.

RÉVISION DES ESPÈCES D'EAU DOUCE DU GENRE *BALLIA* (RHODOPHYTES, CÉRAMIALES)

A. COUTÉ* et C. SARTHOU**

* Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, 75005 Paris.
** CNRS. URA 1183. Laboratoire de Botanique tropicale, 12 rue Cuvier, 75005 Paris.

RÉSUMÉ - Les auteurs ont récolté en Guyane française deux rhodophycées dulçaquicoles, *Ballia prieurii* Kützing et *Ballia pinnulata* Kumano. L'étude de l'organisation générale de celles-ci et la comparaison avec certains échantillons d'herbier de même qu'avec toutes les descriptions antérieures des différentes espèces d'eau douce, leur permettent de conclure que ces deux taxons sont les seuls valides. *B. pinnulata*, connu jusqu'ici seulement de Malaisie, est mentionné pour la première fois sur le continent américain. Son épiphytisme sur *B. prieurii* et la présence de ces deux algues dans une station très circonscrite, incitent les auteurs à imaginer que *B. pinnulata*, porteur de sporocystes interprétés comme des spermatocystes, pourrait être le gamétophyte de *B. prieurii*.

ABSTRACT - The authors have collected in French Guiana two freshwater rhodophyceae, *Ballia prieurii* Kützing and *Ballia pinnulata* Kumano. The anatomy of these algae and their comparison with some exsiccatas from herbarium and with all earlier descriptions of the different freshwater species, authorize them to conclude that both taxa are the only valid. *B. pinnulata* known till now only from Malaysia is discovered for the first time in America. Its epiphytism on *B. prieurii* and the occurrence of both species in a so confined space allow the authors to imagine that *B. pinnulata*, with its sporocysts understood as spermatocysts, should be *B. prieurii* gametophyte.

MOTS CLÉS : Rhodophytes, *Ballia*, Guyane française, eau douce, révision spécifique.

INTRODUCTION

Le genre *Ballia* a été créé en 1840 par Harvey à partir d'échantillons récoltés en Tasmanie par Smith à Port Arthur et par Gunn à Circular Head et transmis à Sir Hooker en 1838. Il a été dédié à l'algologue irlandaise Ball. Toutefois, il faut préciser que le premier à avoir trouvé cette algue est Brown qui l'a rencontrée sur l'île de Kent, dans le détroit de Bass, en 1803 et plus tard à Port Dalrymple, sur l'île de Van Diemen (= Tasmanie). Il s'agit d'une espèce marine que Harvey a, alors, dénommée *B. brunonia*.

Les espèces dulçaquicoles de ce genre connues actuellement sont au nombre de trois, voire quatre. La première, *Ballia prieurii*, a été décrite en 1847 par Kützing mais sans iconographie. Il n'a publié celle-ci qu'en 1861. Cette algue a été trouvée dans des récoltes effectuées par Leprieur, pharmacien de la marine nationale, entre 1835 et 1848, en Guyane française, dans le ruisseau "Les Gémeaux" dans la montagne de Mahuri. Skuja (1944) signale l'avoir retrouvée en étudiant des échantillons de *Sterrocladia* Schmitz provenant de ruisseaux de la montagne de Kaw, non loin de Cayenne. Il a également observé cette espèce parmi d'autres algues rouges que lui a fournies le Dr Richards depuis la Guyane britannique (premières chutes de la rivière Essequibo, sur rochers granitiques, 14.10.1929, sous le n° 559). Selon cet auteur, *B. prieurii* serait connu sur la côte du Venezuela ainsi que sur la côte N.E. du Brésil. Les illustrations qu'il fournit (1944, planche VII, fig. 1 à 5) éclairent bien sur l'anatomie et la cytologie de ce taxon. En 1970, Bourrelly a réexaminé l'échantillon type déposé à l'herbier Thuret-Bornet du Muséum National d'Histoire naturelle de Paris sous le numéro 832. Il en a donné trois figures (pl. 71, fig. 6; pl. 72, fig. 1 et 2). En 1982, Ratnasabapathy et Kumano ont signalé *Ballia prieurii* en Malaisie (p. 20 et 21, fig. 4 A, B, C). Enfin, Thérézien (1985) mentionne la présence de cette algue également en Guyane française, dans la crique Awahakiki, sous-affluent du Maroni, dans la région de Grand Santi ainsi que dans la crique Balaté, près de St Laurent du Maroni. Un dessin (pl. VI, Fig. 3) accompagne sa description.

La seconde espèce, *Ballia pygmoea*, (orthographe originelle) a été créée par Montagne en 1850 à partir d'une plante récoltée aussi par Leprieur, au cours de la même période (1835-1848), en Guyane française, dans la crique Cacao et dans la crique Gravier de la montagne de Kaw, épiphyte sur un thalle de *Batrachospermum equisetifolium* Montagne. Aucune iconographie n'a été donnée par l'auteur. Le seul document graphique dont on dispose pour ce taxon est dû à Bourrelly (1970) qui a réexaminé l'échantillon type déposé à l'herbier général du Muséum National d'Histoire naturelle de Paris, sous le numéro 1109 (pl. 71, fig. 5).

Ballia pinnulata est la troisième espèce connue pour ce genre. Elle est due à Kumano (1978) qui l'a trouvée en Malaisie occidentale, vivant fixée sur les racines immergées d'une phanérogame, *Saraca thaipingensis* Cantley ex Prain, au centre d'études agricoles de l'université de Malaisie. Trois figures (Fig. 1A, B, C) illustrent la diagnose.

La quatrième espèce, enfin, tout à fait hypothétique, d'ailleurs, est *Ballia chilensis* Decaisne signalée et non décrite, en 1842, par Decaisne (1842a, p. 358; 1842b, p. 62).

Par la suite, seul Trévisan (1845, p. 47), de Toni (1903, p. 1397) et Starmach (1977, p. 256) font allusion à cet organisme sans apporter plus de lumière à son sujet. Il s'agit donc d'un *nomen nudum* et à l'avenir on devra indiquer ce taxon sous la dénomination: *Ballia chilensis* Decaisne *nom. nud.* Quant à savoir s'il s'agit d'une algue marine ou dulçaquicole, aucun élément ne permet de trancher à ce sujet.

Au cours d'une mission organisée en août 1989 à la station scientifique permanente des Nouragues, en Guyane française, à une centaine de kilomètres dans le S.S-W. de Cayenne, nous avons récolté en assez grande quantité, au lieu-dit "les Cascades", une petite rhodophycée rappelant, par ses caractères généraux, le genre *Ballia*. Cette algue et l'épiphyte qu'elle s'est révélée porter, sont à l'origine de ce travail.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La station des Nouragues est située dans le massif des montagnes Balenfois en bordure du bassin de l'Arataye, par 52°42' de longitude ouest et 4°3' de latitude nord. Elle a été créée, en automne 1986, conjointement par le CNRS, le Muséum National d'Histoire naturelle et l'ORSTOM. Elle est installée au pied d'un inselberg qui culmine à 411 mètres.

Le lieu-dit "les Cascades" où ont été récoltés les échantillons d'algues, se localise à environ une heure de marche de la station, dans le S.S-W. et à environ 100 mètres d'altitude. Les rhodophycées étudiées ici ont été collectées les 23 et 29 août 1989, dans un ruisseau à courant vif et eau très claire, circulant en forêt, donc en zone ombragée. Elles étaient fixées solidement au substrat constitué soit par un sable siliceux jaune-clair à granulation grossière (profondeur: 10 à 20cm), soit sur la roche au fond du ruisseau (profondeur: 50 à 60cm) ou sur les parois de blocs immergés. La couleur des thalles était bleu-vert sombre et leur aspect simulait celui de bryophytes aquatiques. Aucune autre macrophyte aquatique n'était alors visible sur le site.

Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau du ruisseau n'ont pu être mesurées au moment de la récolte. Elles l'ont été, par contre, plus tard, à des périodes où les algues ont encore été observées. Leurs valeurs sont fournies dans le tableau 1.

L'échantillonnage a été réalisé soit par grattage du support rocheux à l'aide d'un couteau ou d'un scalpel pour décrocher les plantes, soit directement à la main pour les organismes vivant sur le sable. Une partie des récoltes a été fixée immédiatement à l'aide d'une solution aqueuse de formaldéhyde à 4% neutralisé au préalable avec du bicarbonate de sodium; le reste a été rapporté à la station pour observation sur le vivant au moyen d'une loupe binoculaire.

	PH	CE	Fe	Ca	Mg	K	Na	Cl	HCO_3	SO_4	NO_3	SiO_2
1.10.89	6.0	22	0.02	0.14	0.21	1.41	2.95	4.50	1.22	0.8	0.30	1.0
	5.7	23	0.03	0.19	0.21	1.32	2.99	4.50	2.07	0.9	0.36	0.2
15.11.89	6.1	22	0.00	0.26	0.05	0.92	2.70	3.96	1.95	0.7	0.40	7.6

Tableau 1: caractéristiques physico-chimiques de l'eau du ruisseau du lieu-dit "les Cascades". Pour les ions, les valeurs sont exprimées en mg/l. La conductivité (CE) est exprimée en μS/cm.

L'étude en microscopie photonique a été faite au laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire naturelle à Paris, avec un microscope Wild M20 équipé d'une chambre claire qui a permis l'obtention des dessins. Les microphotographies ont été réalisées sur le même microscope muni alors de l'équipement photographique WILD-PHOTO-AUTOMAT.

Enfin, les échantillons d'herbier qui ont servi aux comparaisons ont été réhydratés soit directement dans l'eau distillée soit dans un mélange eau-éthanol-détergent.

RÉSULTATS

Dans les récoltes effectuées dans le ruisseau des "Cascades", deux types d'algues ont pu être observés. L'une, de taille relativement importante, pouvait atteindre un centimètre de longueur et sa couleur était bleu-vert sombre. Elle apparaît dans la suite du travail sous l'appellation provisoire de taxon 1. L'autre, plus petite que la précédente, sa longueur n'excédant pas le millimètre, n'a été repérée que lors des observations fines à l'aide de la loupe binoculaire et du microscope photonique. Sa couleur est rose-violacé. Elle est qualifiée ici de taxon 2.

Les thalles du taxon 1 sont organisés sur le mode cladomien uniaxial et, dans la plupart des cas observés, réduits à un cladome primaire (fig. 3 et 10). Ils sont, en effet, constitués par un axe principal (axe du cladome) de type filamenteux haplostique (ou filament unisérié). Les cellules axiales sont renflées dans leur région médiane (longueur: 35-60μm; largeur au niveau des cloisons: 25-32μm; largeur au niveau médian: 37-50μm) (fig. 13 et 14). La cellule apicale de chaque thalle est cylindrique avec sa face libre convexe (fig. 3, 11 et 12). Selon son état de maturité, sa longueur varie (55-85μm) et sa base est plus ou moins élargie. La pigmentation de cette cellule est toujours plus pâle que celle des autres éléments de l'axe (bleu-vert sombre) de sorte qu'on peut souvent y observer directement, sans coloration, le noyau (fig. 12). A l'exception des deux ou trois cellules de la région de l'apex, les cellules axiales portent toutes dans leur partie médiane, deux pleuridies insérées symétriquement par leur coxale (cellule basale) de part et d'autre de l'axe. Toutes les pleuridies d'un thalle se développent dans le même plan conférant ainsi à la plante un aspect pseudofoliacé ou encore penné. Elles se ramifient aussi toujours très régulièrement, la coxale supportant, dans tous les cas, trois ou quatre rameaux à croissance, de plus, définie. Il résulte de cela que les pleuridies ont pratiquement toutes la même longueur (90-120μm) et leur nombre de cellules constitutives varie entre quatre et sept, à l'exception de celles en cours de formation dans la région apicale. Ces dernières sont plus courtes et souvent limitées à un simple renflement de la cellule sous-apicale. Dans cette région du thalle, on peut aussi noter que la croissance des pleuridies n'est pas symétrique mais alterne (fig. 3, 10 et 11).

Chez ce taxon, il est également aisé d'observer les synapses qui relient les cellules entre elles (fig. 13).

Dans certains exemplaires, mais rarement, d'après nos observations, des cladomes secondaires (ramifications de l'axe) peuvent se former (fig. 3). Ils

se développent à la place de pleuridies de l'axe primaire. Leur organisation est totalement similaire à celle décrite précédemment pour le cladome primaire.

A la base des thalles, certaines pleuridies sont transformées. Leur coxale porte un seul rameau unisérié fait de cellules cylindriques très allongées (longueur: 140-210μm; largeur: 13-22μm) et à contenu cellulaire pratiquement incolore (fig. 4 et 19). Ces rameaux filamenteux sont les rhizoïdes. Généralement, un seul rhizoïde prend naissance d'une cellule axiale. En moyenne, on dénombre jusqu'à dix de ces rameaux spécialisés par thalle. Cet appareil de fixation est particulièrement efficace puisqu'il permet à la plante de résister au courant assez fort du ruisseau. Cette résistance se trouve également renforcée par le fait que la plante ne possède pas de rameaux dressés et que l'ensemble de son appareil végétatif épouse la surface du substrat.

Parmi les thalles récoltés, certains portaient de grosses cellules ellipsoïdales (grand axe: 50-65μm; petit axe: 28-53μm), à contenu dense mais moins pigmenté que celui des cellules végétatives (fig. 3, 20, 21 et 22). Elles sont insérées soit directement sur les coxales, soit à l'extrémité de rameaux pleuridiens. Dans quelques cas, on observe seulement leur enveloppe vidée de son contenu. Il peut donc s'agir de monosporocystes. Leur apparition ne semble pas intervenir dans une région privilégiée du thalle. Pour finir avec cette première rhodophycée, il faut signaler encore que les rameaux pleuridiens se terminent parfois par des poils constitués par des cellules uniques, incolores, cylindriques (diamètre: 2μm) à base renflée et avec l'essentiel de leur cytoplasme localisé à l'apex (fig. 18).

Enfin, un petit épiphyte unicellulaire, de couleur violacée, de forme ellipsoïdale (grand axe: 10μm; petit axe: 3μm) mais à base tronconique a été observé, en nombre souvent important, fixé sur les verticilles pleuridiens (fig. 23).

Le taxon 2 récolté aussi aux Nouragues a toujours été trouvé épiphyte sur le taxon 1 (fig. 24). Ses thalles sont également organisés sur le mode cladomien uniaxial et limités, dans la majeure partie des cas à un cladome primaire (fig. 25). Dans quelques rares exemplaires, des cladomes secondaires ont pu être observés (fig. 5).

Les cellules de l'axe unisérié du thalle sont quadratiques (côté: 15-19μm) (fig. 25 et 26). La cellule apicale est de longueur variable selon son état de maturité (longueur: 15-32μm) et sa face libre est convexe. Sa pigmentation est aussi dense que celle des autres cellules de l'axe (rose-violacé). Ces dernières, sauf celle de l'apex, portent chacune deux pleuridies insérées symétriquement de part et d'autre de l'axe c'est-à-dire de façon opposée et légèrement au-dessus de leur région médiane) (fig. 26). Toutes les pleuridies sont ainsi développées dans un même plan ce qui donne au thalle une allure pennée caractéristique. Les pleuridies sont presque toujours unisériées, faites de cellules en forme de tonnelet (longueur: 6-9μm, largeur: 6-8μm dans la région médiane) (fig. 28). Le nombre de cellules par pleuridie varie de quatre à onze mais généralement il est de l'ordre de six; la longueur des rameaux latéraux est par conséquent assez régulière (longueur: 26-(65)-110μm).

Les deux ou trois cellules axiales sous-apicales portent des pleuridies embryonnaires dont la formation et la croissance ne sont pas synchrones mais alternes (fig. 10 et 26). Dans cette région de l'axe, on peut aussi observer les synapses (fig. 26).

L'appareil fixateur des thalles du taxon 2 est constitué soit, par quelques rares rhizoïdes naissant sur les deux ou trois cellules axiales basales (fig. 5) soit, par une partie prostrée fixée sur une ou plusieurs cellules axiales du taxon 1 (fig. 7).

Chez les nombreux exemplaires du taxon 2 trouvés dans les récoltes, quelques uns montraient, plutôt dans leur région médiane, à l'extrémité des pleuridies (fig. 6, 27 et 28) ou sur de courts rameaux latéraux de celles-ci (fig. 8 et 29), des cellules sphériques (diamètre: 7-9μm) à contenu pâle. Il peut s'agir de monosporocystes ou, plus probablement de gamétocystes mâles (spermatocystes). Certains apparaissent même vidés (fig. 9).

Enfin, comme pour le taxon 1, une partie des thalles du taxon 2 supportent un petit épiphyte unicellulaire, violacé, de forme ellipsoïdale (fig. 31) mais à base tronconique. Les cellules de cet organisme, parfois très nombreuses, sont fixées sur les pleuridies (fig. 30).

DISCUSSION

Les taxons 1 et 2, par leur organisation générale et la disposition dans un même plan de toutes les pleuridies insérées, par ailleurs, de façon opposée sur les cellules axiales, coïncident bien avec la diagnose donnée par Harvey (1840) à propos du genre *Ballia* (*"Frons rosea, lucida, rigida, diorgana; caulis cylindrica, cartilagineus, inarticulatus, fibrillis vestitus: ramuli cornei, articulati, distichi, pluris pinnati, pinni oppositis..."*).

Compte tenu de la nature parfaitement dulçaquicole de la station des Nouragues (tableau 1), force est donc de rechercher parmi les espèces d'eau douce celles auxquelles on peut rattacher ces deux algues.

Notre taxon 1 est en accord avec les dessins c et surtout e (avec la couleur également) donnés par Kützing (1861, pl. 38) à propos de *Ballia prieurii*, espèce décrite par ce même auteur en 1847. Les dimensions des cellules axiales et pleuridiennes et la taille des pleuridies ainsi que leur insertion opposée et dans un même plan pour toutes, sont en totale concordance avec nos échantillons. Par contre les dessins d et f de la même planche sont très différents tant par la forme et les dimensions des cellules de l'axe (dessin d) que par le nombre de pleuridies par verticille (dessin f).

Les illustrations fournies par Skuja (1944, pl. VII), second auteur à avoir décrit *B. prieurii* au moyen d'une iconographie, sont plus précises que celles de Kützing. Elles montrent une similitude évidente avec les nôtres, en particulier par la forme des cellules axiales, par le mode de ramification des pleuridies et par les dimensions.

Enfin, la comparaison avec les dessins de Bourrelly (1970, pl. 71, fig. 6; pl. 72, fig. 1 et 2), et ceux de Ratnasabapathy & Kumano (1982, p. 20, fig. 4

A, B, C), derniers algologues à fournir des dessins originaux de cette algue, confirme que le taxon 1 récolté aux Nouragues est bien *B. prieurii.* Elle conduit aussi à prendre en considération le cas de *Ballia pygmoea* Montagne. Seul Bourrelly, en effet, a donné une représentation (1970, pl. 71, fig. 5) de cette espèce décrite par Montagne en 1850, et ce, à partir de l'échantillon type n° 1109 de l'herbier général du Muséum National d'Histoire naturelle de Paris. Or le dessin de *B. pygmoea* ne présente pratiquement pas de différence avec ceux de *B. prieurii.* De plus, curieusement, Skuja (1944) n'évoque pas dans son travail, ce taxon, alors qu'il a lui-même consulté l'échantillon type de *B. prieurii* conservé dans l'herbier Thuret-Bornet du même établissement, sous le numéro 832. Afin de tenter de trancher ce problème, nous avons étudié ces deux mêmes échantillons n° 1109 et 832. Les résultats obtenus (fig. 1, 2, 15, 16 et 17) permettent de constater qu'il n'y a aucun caractère morphologique ou dimensionnel typique pour différencier ces deux organismes. *B. prieurii* et *B. pygmoea* constituent donc une seule et même espèce. Le nom valide à retenir, compte tenu de la priorité, est celui donné par Kützing en 1847, à savoir *Ballia prieurii* et l'échantillon type est le n° 832 de l'herbier Thuret-Bornet.

Pour en finir avec ces constatations, il faut ajouter que l'algue récoltée par Thérézien (1985) en Guyane française et attribuée à *B. prieurii* ne correspond pas à celle-ci tant par les dimensions et les morphologies de ses cellules que par l'organisation de ses pleuridies (à l'exception de la figure 3 de la planche VI, à droite, qui montre deux pleuridies ramifiées mais de taille plus faible que chez *B. prieurii*). Il s'agit cependant bien du genre *Ballia.* Son cas sera discuté plus loin.

Enfin, l'observation de grosses cellules insérées à l'extrémité des rameaux pleuridiens, que nous sommes obligés de considérer comme des monosporocystes, leur contenu étant indivis, est un résultat original. Les échantillons récoltés par Leprieur de même que ceux étudiés par Skuja ne présentent pas ce type de différenciation cellulaire. Kumano (1978, p. 99, fig. 1) a noté, chez *Ballia pinnulata* Kumano, des formations analogues mais de dimensions plus modestes (longueur: 16-20μm; largeur: 10-14μm) qu'il interprète aussi comme des monosporocystes. Ce même auteur et Phang (sous presse) nous signalent qu'ils viennent d'observer de tels monosporocystes chez *B. prieurii* (spécimen n° 105, 1985; spécimen n° 236, 1986; spécimen n° 266, 1986) découvert en Malaisie.

Pour le taxon 2, étant donné les différences dimensionnelles, morphologiques et anatomiques qui le distinguent du taxon 1, il ne peut s'agir de *B. prieurii.* Le cas de *Ballia chilensis* signalé plus haut aboutissant à un *nomen nudum*, il ne reste donc qu'une seule espèce dulçaquicole avec laquelle on puisse le comparer. Il s'agit de *B. pinnulata*, créé récemment par Kumano (1978) à partir d'une plante originaire de Malaisie et récoltée entre 1970 et 1973 au cours du programme de coopération entre Malaisie et Japon de recherche scientifique sur les lacs d'eau douce de Malaisie. La forme et les dimensions de ses cellules axiales, l'organisation unisériée de ses pleuridies et leur nombre d'éléments, conduisent à conclure à une profonde similitude entre *B. pinnulata* et le taxon 2 des Nouragues. Il faut noter, toutefois, que dans nos échantillons, la cellule apicale n'est pas toujours hémisphérique

(fig. 25) comme le signale Kumano dans sa diagnose (p. 98). A notre avis, cette variation morphologique est simplement liée à l'état de maturité de la cellule et nous considérons donc que notre rhodophycée appelée jusqu'ici taxon 2 n'est autre que *B. pinnulata*. La station des Nouragues en Guyane française, est donc le deuxième lieu de récolte de cette espèce et la première sur le continent américain. Cependant, il existe deux autres sites, en Guyane française, où cet organisme a déjà été observé. Il s'agit de la crique Awahakiki, dans la région de Grand Santi et de la crique Balaté, près de St Laurent du Maroni. C'est là que Thérézien a trouvé l'algue qu'il a dénommée *B. prieurii* et qui, selon nous, est *B. pinnulata*. En effet, ses figures 3 de gauche et du centre sur la planche VI, correspondent bien à nos exemplaires de *B. pinnulata* et à ceux de Kumano (1978), par la forme quadratique et les dimensions des cellules axiales et par l'organisation unisériée des pleuridies.

Rappelons enfin que si nous n'avons pas observé, chez nos spécimens, les grosses cellules ellipsoïdales signalées par Kumano (1978, p. 99, fig. 1B et C), les cellules sphériques, nombreuses dans certains thalles, que nous décrivons et interprétons comme de probables spermatocystes, constituent aussi une originalité pour les espèces d'eau douce. Elles rappellent par leur forme, leurs dimensions et leur mode d'insertion, les spermatocystes de *Ballia marina* Harvey illustrés par Wollaston (1974, p. 24, fig. 14) chez cette espèce marine.

Quant au petit épiphyte observé sur les thalles de nos deux taxons, nous ne pouvons formuler que des hypothèses à son égard. Il pourrait s'agir d'une cyanophycée du genre *Chamaesiphon* Braun & Grunow, mais il est surprenant de trouver tous les individus au même stade, dépourvus de spores. On pourrait aussi avoir affaire à des zoïdes ayant perdu leurs flagelles et fixés sur le substrat, mais on ne connaît pas de zoïdes flagellés chez les rhodophycées.

CONCLUSION

D'après nos résultats, *B. chilensis* n'ayant jamais été décrit devient un *nomen nudum*. Par ailleurs, *B. pygmoea* est à considérer comme synonyme de *B. prieurii*. Pour ce genre, il ne reste donc, en eau douce, que deux espèces *B. prieurii* et *B. pinnulata*.

A propos de ces deux dernières, on peut s'étonner de les rencontrer ensemble dans un site aussi réduit que celui des Cascades aux Nouragues alors qu'aucune autre algue unicellulaire ne coexiste à cet endroit. De plus, la configuration de la station de récolte rend impossible l'introduction de l'une ou de l'autre à l'occasion d'inondation. Enfin *B. pinnulata* étant épiphyte sur *B. prieurii*, on pourrait imaginer que ces deux algues soient deux stades du cycle d'un même organisme. Dans ce cas, *B. pinnulata* représenterait le gamétophyte (avec les spermatocystes (?) ici) et *B. prieurii* le tétrasporophyte. Pour confirmer cette hypothèse, il faudrait:

- vérifier que les sporocystes de *B. pinnulata* que nous décrivons, sont bien des spermatocystes;

- trouver les gamétocystes femelles ou des gonimoblastes chez *B. pinnulata*;

- observer des tétraspores chez *B. prieurii*.

Une étude, à l'aide du microscope électronique à transmission, des synapses de ces deux taxons, en montrant ou non la similitude de l'ultrastructure de ces organites, pourrait aussi donner raison ou non à ce point de vue.

BIBLIOGRAPHIE

BOURRELLY P., 1970 - *Les algues d'eau douce, initiation à la Systématique. III. Les algues bleues et rouges.* Paris, Boubée, 512 p.

DECAISNE J., 1842a - Essais sur une classification des algues et des polypiers calcifères. Mémoire sur les corallines. *Ann. Sci. Nat. (Paris). Sec. sér., Botanique* 17: 297-380.

DECAISNE J., 1842b - *Essais sur une classification des algues et des polypiers calcifères. Mémoire sur les corallines.* Paris, Renouard, 120 p., 4 pl.

HARVEY W.H., 1840 - Description of *Ballia*, a new genus of algae. *J. Bot.* 2 (12): 190-193, 1 pl.

KUMANO S., 1978 - Notes on freshwater red algae from West Malaysia. *Bot. Mag. (Tokyo).* 91: 97-107.

KUMANO S. et PHANG S.M. - *Ballia prieurii* Kützing and related species (Ceramiales, Rhodophyta). *Jap. J. Phycol.* (sous presse).

KÜTZING F.T., 1847 - Diagnosen und Bemerkungen zu neuen oder kritischen Algen. *Bot. Zeitung (Berlin)* 5 (3): 33-38.

KÜTZING F.T., 1861 - *Tabulae Phycologicae oder Abbildungen der Tange.* vol. 11, 32 p., 100 pl. Nordhausen.

MONTAGNE C., 1850 - Cryptogamia guyanensis, seu Plantarum cellularium in Guyana gallica annis 1835-1849 a Cl. Leprieur collectarum enumeratio universalis. *Ann. Sci. Nat. (Paris). Trois. sér.* 14 (5): 283-309.

RATNASABAPATHY M. et KUMANO S., 1982 - Studies on freshwater red algae of Malaysia I. Some taxa of the genera *Batrachospermum, Ballia* and *Caloglossa* from Pulau Tioman, West Malaysia. *Jap. J. Phycol.* 30 (1): 15-22.

SKUJA H., 1944 - Untersuchungen über die Rhodophyceen des Süsswassers. *Acta Horti Bot. Univ.* 14 (1/2): 3-64, 10 pl.

STARMACH K., 1977 - *Phaeophyta-Brunatnice, Rhodophyta-Krasnorosty.* vol. 14, 444 p., Varsovie-Cracovie.

THEREZIEN Y., 1985 - Contribution à l'étude des algues d'eau douce de la Guyane française à l'exclusion des diatomées. *Bibliotheca Phycologica* 72: 275 p.

de TONI, J. Bapt., 1903 - *Sylloge Algarum omnium hucusque cognitarum.* vol. 4 (3): 775-1521, Patavii.

TREVISAN V.B.A., 1845 - *Nomenclator Algarum ou Collection des noms imposés aux plantes de la famille des algues.* vol. 1: 80p., Padoue.

WOLLASTON E.M., 1974 - Sexual reproduction in *Ballia mariana* Harvey and *Ballia ballioides* (Sonder) Wollaston (Ceramiaceae, Rhodophyta). *Phycologia* 13 (1): 21-26.

LÉGENDES DES FIGURES

Fig. 1: *Ballia prieurii* (échantillon de l'herbier Thuret-Bornet, M.N.H.N., n° 832). Fragment de la région apicale d'un thalle. Fig. 2: *B. prieurii* (= *B. pygmoea*, échantillon de l'herbier général, M.N.H.N., n° 1109). Fragment de la région apicale d'un thalle. Fig. 3 et 4: *B. prieurii* (échantillon récolté aux Nouragues, Guyane, 1989) - fig. 3: fragment d'un thalle avec une ramification et sporocystes. fig. 4: fragment de base d'un thalle avec insertion de quelques rhizoïdes. Fig 5 à 9: *B. pinnulata* (échantillon récolté aux Nouragues, Guyane, 1989) - fig. 5: thalle, vue d'ensemble. fig. 6: détail d'un fragment de thalle portant, à l'apex des rameaux latéraux, des sporocystes (=spermatocystes ?). fig. 7: détail de la partie prostrée d'un jeune thalle de *B. prieurii*. fig. 8 et 9: détails de deux extrémités apicales de rameaux latéraux avec sporocystes (= spermatocystes ?) dont deux vidés de leur contenu (fig. 9).

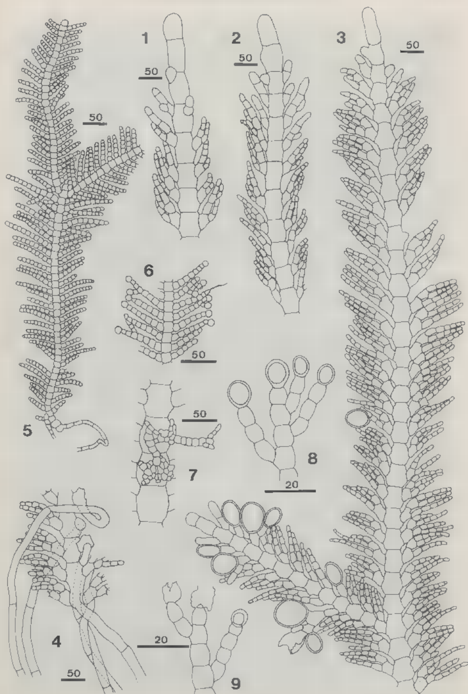
Fig. 10 à 14: *Ballia prieurii* (échantillon récolté aux Nouragues, Guyane, 1989). - fig. 10: fragment de la partie apicale d'un thalle. fig. 11: détail des cellules apicales d'un autre thalle. fig. 12: cellule apicale. Le noyau est bien visible (flèche). fig. 13: détail d'une cellule axiale. Les flèches montrent les synapses qui relient les cellules entre elles. fig. 14: détail d'un fragment d'axe et des insertions des rameaux latéraux.

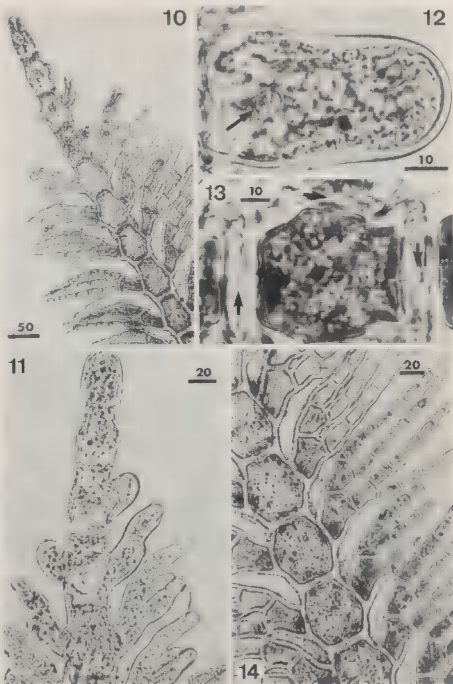
Fig. 15 et 16: *Ballia prieurii* (échantillon de l'herbier Thuret-Bornet, M.N.H.N., n° 832) - fig. 15: fragment de la région apicale d'un thalle. fig. 16: détail d'un fragment de thalle avec rameaux latéraux. Fig. 17: *B. prieurii* (= *B. pygmoea*, échantillon de l'herbier général, M.N.H.N. n°1109). Fragment de la région apicale d'un thalle. Fig. 18 et 19: *B. prieurii* (échantillon récolté aux Nouragues, Guyane, 1989). - fig. 18: détail d'un poil inséré à l'apex d'un filament latéral. fig. 19: extrémité d'un rhizoïde.

Fig. 20 à 23: *Ballia prieurii* (échantillon récolté aux Nouragues, Guyane, 1989) - fig. 20: fragment de thalle avec sporocystes. - fig. 21 et 22: détail de deux sporocystes. - fig. 23: détails de quelques cellules épiphytes sur les rameaux latéraux de *B. prieurii*. Fig. 24 et 25: *B. pinnulata* (échantillon récolté aux Nouragues, Guyane, 1989). - fig. 24: plusieurs thalles épiphytes sur un axe de *B. prieurii*. - fig. 25: détail d'un fragment de la région apicale d'un thalle.

Fig. 26 à 31: *Ballia pinnulata* (échantillon récolté aux Nouragues, Guyane, 1989). - fig. 26: détail de l'apex d'un thalle; synapse (flèche). - fig. 27: fragment de thalle portant à l'extrémité de certains rameaux latéraux des sporocystes (spermatocystes ?). - fig. 28: détail de deux sporocystes (= spermatocystes?) à l'apex de rameaux latéraux. - fig. 29: détail d'un sporocyste (= spermatocyste?) à l'extrémité d'une ramification de rameau latéral. - fig. 30: fragment de thalle portant, sur ses rameaux latéraux, des cellules épiphytes. - fig. 31: détail d'une cellule épiphyte sur un rameau latéral.

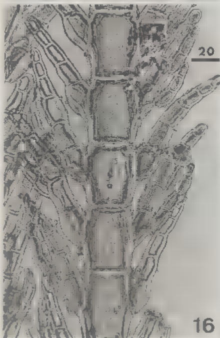
Nous remercions Mme Catherine GRIMALDI, du laboratoire d'Hydrologie du centre ORSTOM de Cayenne, pour les résultats d'analyse des eaux, qu'elle a bien voulu nous communiquer.

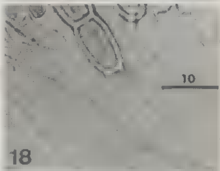

1
2
3
50
50
50
50
4
5
6
7
8
9
20
20


10
12
10
13
10
50
11
20
20
14

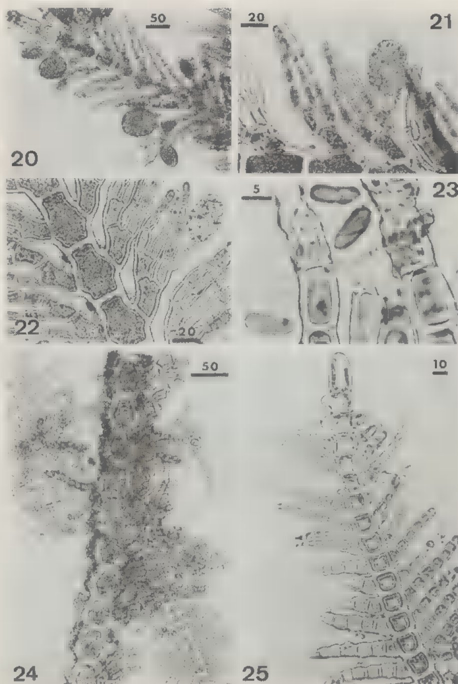

15
20

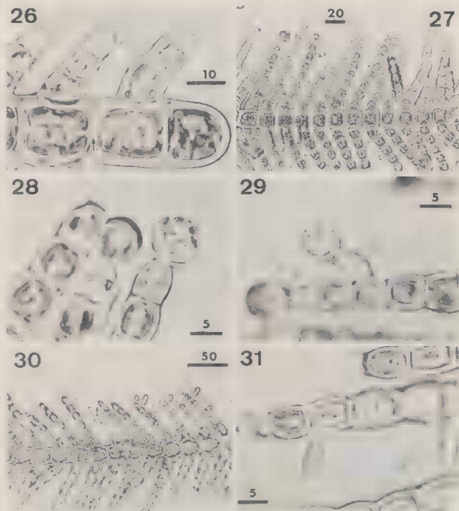

17
20


20
16


10
18


20
19


50
20
21
20
22
20
5
23
50
24
10
25


26
10
20
27
28
5
29
5
30
50
31
5

CARPOGONIA AND CARPOSPOROPHYTES OF MONTAGNE'S TAXA OF *BATRACHOSPERMUM* (RHODOPHYTA) FROM FRENCH GUIANA

Shigeru KUMANO

Department of Biology, Faculty of Science, Kobe University, Rokko-dai, Nada-ku, Kobe, 657 Japan.

ABSTRACT - Based on the type specimens of French Guiana, carpogonia and carposporophytes of Montagne's taxa of the genus *Batrachospermum* were examined to determine their taxonomic status. *Batrachospermum torridum*, *B. guyanense* (Montagne) comb. nov., *B. nodiflorum* and *B. ambiguum* must be assigned to the section *Contorta*. In contrast, *B. equisetifolium* and *B. macrosporum* (syn. *B. oxycladum* and *B. excelsum*) are placed in the section *Aristatae*, to which *B. cayennense* is assigned.

RÉSUMÉ - L'auteur a examiné les carpogones et carposporophytes des spécimens-type des *Batrachospermum* de la Guyane française décrits par Montagne (1850) afin de déterminer leurs positions taxonomiques. *B. torridum*, *B. guyanense* (Montagne) comb. nov., *B. nodiflorum* et *B. ambiguum* sont assignés à la section *Contorta*; *B. equisetifolium* et *B. macrosporum* (syn. *B. oxycladum* et *B. excelsum*) à la section *Aristatae* à laquelle appartient *B. cayennense*.

MOTS CLÉS : *Batrachospermum*, French Guiana, Montagne's taxa, type specimen.

INTRODUCTION

Based on the specimens collected by Leprieur from French Guiana, Montagne (1850) published "Cryptogamia Guyanensis", in which he reported 76 taxa including 9 taxa of the genus *Batrachospermum*. At this time, no reproductive characteristics of Rhodophyta such as spermatangia and carpogonia were found. Montagne did describe the carposporophyte as clusters of sporangia (sporarum glomerulo), although he gave no text figures.

Sirodot (1884) referred Montagne's taxa, namely, *Batrachospermum torridum* Montagne (as *B. vagum* var. *torridum* (Montagne) Sirodot), *B. vagum* var. *guyanense* Montagne, *B. nodiflorum* Montagne (as *B. vagum* var. *nodiflorum* (Montagne) Sirodot), *B. ambiguum* Montagne, *B. equisetiflorum* Montagne, *B. cayennense* Montagne, *B. macrosporum* Montagne, *B. excelsum* Montagne (as *B. macrosporum* var. *excelsum* (Montagne) Sirodot) and *B.*

oxycladum Montagne (as *B. macrosporum* var. *oxycladum* (Montagne) Sirodot).

Although *B. macrosporum* Montagne has been referred by Skuja (1933) without text figure, Thérézien (1985) and Kumano & Necchi (1990) showed text figures of carpogonia and carposporophytes of this species based on French Guiana and Brazilian collections. Bourrelly (1970) showed spermatangia, carpogonia and carposporophytes of *B. cayennense* Montagne based on the type specimen of this species and Kumano & Ratnasabapathy (1982) based on Malaysian collection.

The present study presents the other specimens of Montagne with detailed analyses of their carpogonia and carposporophytes to determine their taxonomic positions.

SPECIMENS EXAMINED

The following nine specimens of Leprieur collection, which were deposited in the Herbarium of Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, were examined:

1) *Batrachospermum torridum* Montagne, Coll. n° 833, on rocks in quiet rivulets near Tigres mountains in Cayenne Island;

2) *Batrachospermum vagum* var. *guyanense* Montagne, Coll. n° 1108, in running freshwater near Cayenne,

3) *Batrachospermum nodiferum* Montagne, Coll. n° 1107, on rocks in quiet rivulets near Tigres mountain in Cayenne Island;

4) *Batrachospermum ambiguum* Montagne, Coll. n° 1110, in Rivulet Orapu;

5) *Batrachospermum cayennense* Montagne, Coll. n° 348, in running water in mountain around Cayenne;

6) *Batrachospermum equisetifolium* Montagne, Coll. n° 1109, on rocks in Creek Gravier in Kew mountains;

7) *Batrachospermum macrosporum* Montagne, Coll. n° 1105, on submerged wood at the bottom of Rivulet Orapu and Comte;

8) *Batrachospermum oxycladum* Montagne, Coll. n° 1106, on stems of drift wood in rivulet, in upstream of Rivulet Comte, 120km from Cayenne;

9) *Batrachospermum excelsum* Montagne, Coll. n° 1104, on stems of submerged plants in Rivulet Oyac.

DESCRIPTION

1. *Batrachospermum torridum* Montagne (Figs. 1-5)

Batrachospermum torridum Montagne 1850, p. 292, Syn. *B. vagum* var. *torridum* (Montagne) Sirodot 1884, p. 266.



Figs. 1-5: *Batrachospermum torridum* Montagne. - 1-2: a slightly-curved carpogonium-bearing branch and carpogonium with club-shaped trichogyne. 3: carposporangia subterminal on gonimoblast filaments with terminal hairs. 4: carposporangia terminal on gonimoblast filaments. 5: monosporangia lateral on primary branchlets. (cp, carposporangium; cf, cortical filament; gf, gonimoblast filament; m, monosporangium; pb, primary branchlet; r, rosette-like lateral; s, spermatangium; sb, secondary branchlet; tr, trichogyne).

No spermatangia were observed. Carpogonium-bearing branch arising from the pericentral cell, consisting of 6-9 (N=5) disc- or barrel-shaped cells, slightly curved; carpogonium about 4μm (N=5) wide at the base, 9-12μm (N=5) wide at the apex, 35-40μm (N=5) long; trichogyne club-shaped, bent at the base, and more or less indistinctly stalked (Figs. 1, 2). Bracts short. Carposporophytes are globose or semiglobose (Figs. 3, 4), 170-350μm (N=6) high, 300-450μm (N=6) in diameter, gonimoblast filaments long, consisting of 5-10 cylindrical or barrel-shaped cells, radially branched and more or less loosely agglomerated, sometimes terminated with long hair cells. Carposporangia obpyriform or ellipsoidal, 7-10μm (N=23) wide, 10-13μm (N=23) long, terminal on laterals of gonimoblast filaments (Figs. 3, 4). Monosporangia ellipsoidal, 6-9μm (N=11) wide, 7-11μm (N=11) long, laterals of primary branchlets (Fig. 5).

Notes: Montagne (1850) described that "sporae pedicellatae, limbatae seu nucleum granulosum in perisporio includentes, sphaericae, diametro 0.01 millim. vix metientes". Based on the type specimen (Coll. n° 833) of this species, the figures of the carposporophytes and carposporangia were drawn by Montagne with pencil, but, not accompanied by figures of carpogonia and spermatangia. This species resembles *B. tortuosum* Kumano (1978) and *B. doboense* Kumano et Bowden-Kerby (1986), for the latter of which carposporangia and carposporophytes were unknown, in having the slightly curved carpogonium-bearing branches, but differs from *B. tortuosum* and *B. doboense* in having monosporangia. As the result of the occurrence of the slightly curved carpogonium-bearing branch, this species may be assigned to the section *Contorta* (Skuja, 1931) with *B. tortuosum* and *B. doboense*, although it may be regarded as an intermediate form between the sections *Contorta* and *Viridia*.

2. *Batrachospermum vagum* var. *guyanense* Montagne (Fig. 6-12).

Batrachospermum guyanense (Montagne), comb. nov. Basionym *B. vagum* var. *guyanense* Montagne 1850, p. 266.

Spermatangia globose, 4-6μm (N=40) in diameter, on terminal or subterminal clusters of the primary and secondary branchlets (Figs. 10, 11), and also on laterals around carpogonium bearing branches (Fig. 9). Carpogonium-bearing branch arising from the pericentral cell, consisting of 6-11 (N=8) disc- or barrel-shaped cells, spiral or twisted; carpogonium about 7μm (N=8) wide at the base, 9-12μm (N=8) wide at the apex, 35-45μm (N=8) long; trichogyne club-shaped, more or less indistinctly stalked (Figs. 6-8). Bracts numerous. Carposporophytes are globose and inserted centrally (Fig. 12), 150-220μm (N=10) in diameter; gonimoblast filaments long, consisting of 5-8 cylindrical cells, radially branched and loosely agglomerated. Carposporangia globose or ellipsoidal, 9-12μm (N=40) wide, 10-15μm (N=40) long, terminal on laterals of gonimoblast filaments (Fig. 12).

Notes: Based on the specimen (Coll.n° 1108) the figures of spermatangia were drawn by Montagne with pencil, but not with figures of carposporophytes and carpogonia. This species resembles *B. kushiroense*



Figs. 6-12: *Batrachospermum guyanense* (Montagne), comb. nov. - 6: carpogonium-bearing branch in early stage of development. 7-8: carpogonium-bearing branches with bracts (laterals). 9: spermatangia terminal on the laterals around carpogonium-bearing branch. 10-11: spermatangia terminal on the primary branchlets. 12: carposporangia terminal on gonimoblast filaments.

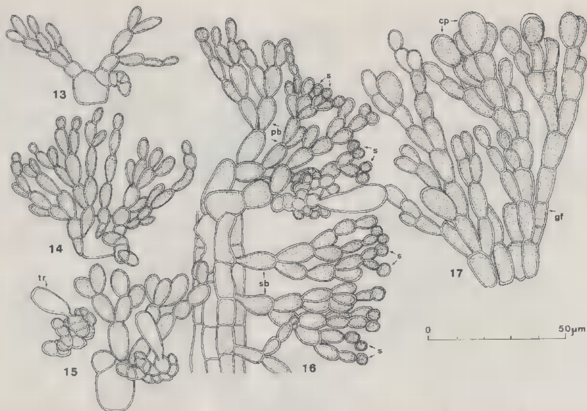


Fig. 13-17: *Batrachospermum nodiflorum* Montagne. - 13-14: carpogonium-bearing branch in early stage of development. 15: spirally twisted carpogonium bearing-branch and carpogonium with ellipsoidal trichogyne. 16: carpogonium-bearing branch and spermatangia terminal on the primary and secondary branchlets. 17: carposporangia terminal on gonimoblast filaments.

Kumano et Ohsaki (1983) in having the curved carpogonium-bearing branches and the loosely agglomerated gonimoblast filaments, but differs from the latter in the size of carpogonium. As the result of the occurrence of the curved carpogonium-bearing branch, this species is not a variety of *B. vagum* of the section *Turficola*, but assigned to the section *Contorta*. Thus, a new combination is proposed as *B. guyanense* (Montagne) comb. nov., basionym *B. vagum* var. *guyanense* Montagne.

3. *Batrachospermum nodiflorum* Montagne (Figs. 13-17).

Batrachospermum nodiflorum Montagne 1850, p. 294. Syn. *B. vagum* var. *nodiflorum* (Montagne) Sirodot 1884, p. 266.

Spermatangia globose, 5-8μm (N = 22) in diameter, terminal on the primary and secondary branchlets (Fig. 16). Carpogonium-bearing branch arising from the pericentral cell, consisting of 3-9 (N = 7) disc- or barrel-shaped cells, twisted; carpogonium 7-9μm (N = 7) wide at the base, 9-13μm (N = 7) wide at the apex, 30-50μm (N = 7) long; trichogyne ellipsoidal or club-shaped, more or less indistinctly stalked (Figs. 13-16). Bracts very short. Carposporophytes are semiglobose or wart-like, 200-400μm (N = 6) high, 350-550μm (N = 6) wide; gonimoblast filaments long, consisting of 5-10 barrel-shaped cells, radially branched and compactly agglomerated. Carposporangia obovoidal or ellipsoidal, 10-13μm (N = 18) wide, 15-20μm (N = 18) long, terminal on laterals of gonimoblast filaments (Fig. 17).

Notes: Montagne (1850) described that "sporae initio perisporio inclusae, tandem liberae ovoideo-oblongae, 0.02 millim. longae, angustoires, granulosae, virides." Based on the type specimen (Coll. n° 1107) of this species, the figures of the carposporophytes and carposporangia were drawn by Montagne with pencil, but not with figures of carpogonium and spermatangia. This species resembles *B. hirosei* Ratnasabapathy et Kumano (1982) in having the wart-like carposporophytes, but differs from the latter in the size of spermatangia, carpogonia, carposporophytes and carpospororangia. As the result of the occurrence of the spirally twisted carpogonium-bearing branch, this species must be assigned to the section *Contorta*.

4. *Batrachospermum ambiguum* Montagne (Figs. 18-23).

Batrachospermum ambiguum Montagne 1850, p. 296

No spermatangia were observed. Carpogonium-bearing branch arising from the pericentral cell (Figs. 18, 19, 21) and cortical cell (Fig. 20) consisting of 4-8 (N = 8) disc or barrel-shaped cells, spiral or twisted; carpogonium 4-8 μm (N = 8) wide at the base, 9-10μm (N = 8) wide at the apex, 15-26μm long; trichogyne ellipsoidal, more or less indistinctly stalked (Figs. 18-21). Bracts very short. Carposporophytes are globose and inserted centrally, 100-170μm (N = 8) in diameter, gonimoblast filaments long, consisting of 5-10 cylindrical or barrel-shaped cells, radially branched and agglomerated. Carposporangia globose or ellipsoidal, 7-8μm (N = 25) wide, 9-11μm (N = 25) long, terminal on laterals of gonimoblast filaments (Fig. 23).

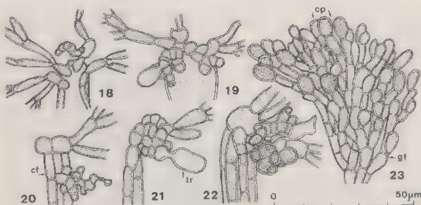


Fig. 18-23: *Batrachospermum ambiguum* Montagne. - 18, 19, 21: spirally coiled carpogonium-bearing branch with carpogonium with ellipsoidal trichogyne. 20: a carpogonium-bearing branch arising from cortical cell. 22: initials of gonimoblast filaments. 23: carposporangia terminal on gonimoblast filaments.

Notes: Montagne (1850) described that "sporarum glomerulis frondi sessilibus crassis numerosis". Based on the type specimen (Coll. n° 1110) of this species, the figures of carposporophytes and carposporangia were drawn by Montagne with pencil, but not with figures of carpogonia and spermatangia. Because of the spirally twisted carpogonium-bearing branch, this species also must be assigned to the section *Contorta*.

5. *Batrachospermum cayennense* Montagne

Batrachospermum cayennense Montagne 1850, p. 291

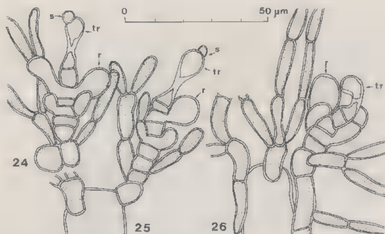
Spermatangia globose, 6-7μm (N = 10) in diameter, terminal on the primary and secondary branchlets. Carpogonium-bearing branch arising from the pericentral cell, consisting of 12-17 (N = 7) disc- or barrel-shaped cells; carpogonium 6-8μm (N = 7) wide at the base, 9-13μm (N = 7) wide at the apex, 29-38μm (N = 7) long; trichogyne ellipsoidal or spatular-shaped, more or less indistinctly stalked. Carposporangia obovoidal or ellipsoidal, 10-13μm (N = 12) wide, 20-30μm (N = 12) long, terminal on laterals of gonimoblast filaments.

Notes: This type specimen (Coll. n° 348) was re-examined by Bourrelly (1970). This species is assigned to the section *Aristatae* (Skuja, 1931).

6. *Batrachospermum equisetifolium* Montagne (Figs. 24-26).

Batrachospermum equisetifolium Montagne 1850, p. 295.

No spermatangia were observed. Carpogonium-bearing branch arising from the pericentral cell, consisting of 4-7 (N = 5) disc- or barrel-shaped cells; carpogonium 7-10μm (N = 5) wide at the base, 9-11μm (N = 5) wide at



Figs. 24-26: *Batrachospermum equisetifolium* Montagne. - 24-26: carpogonium-bearing branch with rosette-like laterals and carpogonium with spatular-shaped trichogyne.

the apex, 25-35µm (N = 5) long; trichogyne ellipsoidal or club-shaped, more or less indistinctly stalked. A hypogynous cell produces rosette-like laterals. No carposporophytes and carposporangia were observed.

Notes: Montagne (1850) reported no sporangia. Based on the type specimen (Coll. n° 1109) of this species, no figures of carposporophytes and carposporangia were drawn by Montagne. *B. equisetifolium* differs from *B. macrosporum* in the size of the trichogyne. The carpogonium is 25-35µm long in *B. equisetifolium*, while the carpogonium is about 35-45µm long in *B. macrosporum*. These two species, however, resemble each other in having hypogenous cells forming rosette-like laterals. At present, *B. equisetifolium* is assigned to the section *Aristatae*, to which *B. cayennense* is assigned. However, it will be proposed that this species is placed in a new section together with *B. hypogynum* and *B. macrosporum* (Kumano & Necchi, 1990) rather than the section *Aristatae* in the near future.

7. *Batrachospermum macrosporum* Montagne

Batrachospermum macrosporum Montagne 1850, p. 293.

No spermatangia were observed. Carpogonium-bearing branch arising from the pericentral cell, consisting of 4-9 (N = 13) disc- or barrel shaped cells; carpogonium 9-15µm (N = 13) wide at the base, 14-18µm (N = 13) wide at the apex, 35-45µm (N = 13) long; trichogyne ellipsoidal or spatular-shaped, more or less distinctly stalked. Carposporangia obovoidal or obpyriform, 25-30µm (N = 30) wide, 30-55µm (N = 30) long, terminal on laterals of gonimoblast filaments (Fig. 17).

Notes: Montagne (1850) described sporangia. Based on this type specimen of this species, the figures of carposporophytes and carposporangia were drawn by Montagne with pencil, but not with figures of carpogonia and spermatangia. This type specimen (Coll. n° 1105) has been re-examined by Skuja (on the specimen dated 8/6 1957), Bourrelly (1970), Thérézien (1985). As Kumano & Necchi (1990) mentioned, it will be proposed that this species is assigned to a new section together with *B. hypogynum* rather than the section *Aristatae* in the near future.

8. *Batrachospermum oxycladum* Montagne

Batrachospermum macrosporum Montagne 1850, p. 293. Syn. *B. oxycladum* Montagne 1850, p. 293, *B. macrosporum* var. *oxycladum* (Montagne) Sirodot 1884, p. 269.

No spermatangia were observed. Carpogonium-bearing branch arising from the pericentral cell, consisting of 6-9 (N = 10) disc- or barrel-shaped cells; carpogonium 9-15μm (N = 10) wide at the base, 15-20μm (N = 10) wide at the apex, 35-45μm (N = 10) long; trichogyne ellipsoidal or spatular-shaped, more or less distinctly stalked. No carposporophyte and carposporangia were observed.

Notes: Montagne (1850) reported no sporangia. Based on the type specimen of this species, no figures of carposporophytes and carposporangia were drawn by Montagne. As Skuja (on the specimen dated 13/6 1957) and Thérézien (1985) mentioned, this specimen (Coll. n° 1106) must be a juvenile female specimen of *B. macrosporum*.

9. *Batrachospermum excelsum* Montagne

Batrachospermum macrosporum Montagne 1850, p. 293. Syn. *B. excelsum* Montagne 1850, p. 291, *B. macrosporum* var. *excelsum* (Montagne) Sirodot 1884, p. 268.

Spermatangia globose, 5-8μm in diameter, terminal on the primary and secondary branchlets. No other reproductive organs were observed.

Notes: Montagne (1850) reported no sporangia. Based on the type specimen of this species, no figures of carposporophytes and carposporangia were drawn by Montagne. As Skuja (on the specimen dated 8/6 1957) and Thérézien (1985) mentioned, this specimen (Coll. n° 1104) must be a male specimen of *B. macrosporum*.

CONCLUSION

Based on examinations of carpogonia and carposporophytes, taxonomic status of each specimen are considered as follows:

1) *Batrachospermum torridum* Montagne 1851, p. 292, syn. *B. vagum* var. *torridum* (Montagne) Sirodot 1884, p. 266. This species may be assigned to the section *Contorta*.

2) *Batrachospermum guyanense* (Montagne), comb. nov., a new combination is proposed for this taxon, as *B. guyanense* (Montagne) comb. nov., basionym *B. vagum* var. *guyanense* Montagne 1850, p. 266. This species must be assigned to the section *Contorta.*

3) *Batrachospermum nodiflorum* Montagne 1850, p. 294, syn. *B. vagum* var. *nodiflorum* (Montagne) Sirodot 1884, p. 266. This species must be assigned to the section *Contorta.*

4) *Batrachospermum ambiguum* Montagne 1850, p. 296. This species also must be assigned to the section *Contorta.*

5) *Batrachospermum cayennense* Montagne 1850, p. 291. This species is assigned to the section *Aristatae.*

6) *Batrachospermum equisetifolium* Montagne 1850, p. 295. At present, this species is placed in the section *Aristatae.*

7) *Batrachospermum macrosporum* Montagne 1850, p. 293, syn. *B. oxycladum* Montagne 1850, p. 293, *B. macrosporum* var. *oxycladum* (Montagne) Sirodot 1884, p. 269, *B. excelsum* Montagne 1850, p. 291, *B. macrosporum* var. *excelsum* (Montagne) Sirodot 1884, p. 268). At present, this species is assigned to the section *Aristatae.*

ACKNOWLEDGEMENTS

Grateful acknowledgements are expressed to Professor P. Bourrelly and Dr. A. Couté of Muséum National d'Histoire Naturelle in Paris for generously providing the type specimens and laboratory facilities. The senior author wishes to express his sincere thanks to Japan Society for the Promotion of Science, and the Centre National de la Recherche Scientifique, France, for financial support of his stay in France.

REFERENCES

BOURRELLY P., 1970 - *Les algues d'eau douce. Initiation à la Systématique. III. Les Algues bleues et rouges; les Eugléniens, Péridiniens et Cryptomonadines.* Paris, Boubée, 512 p.

KUMANO S., 1978 - Notes on freshwater red algae from West Malaysia. *Bot. Mag. Tokyo* 91: 97-107.

KUMANO S. & BOWDEN-KERBY W.A., 1986 - Studies on the freshwater Rhodophyta of Micronesia I. Six new species of *Batrachospermum. Jap. J. Phycol.* 38: 119-123.

KUMANO S. & NECCHI O. Jr., 1990 - *Batrachospermum macrosporum* Montagne from South America. *Jap. J. Phycol.* 38: 119-123.

KUMANO S. & OHSAKI M., 1983 - *Batrachospermum kushiroense.* sp. nov. (Rhodophyta, Nemalionales) from Kushiro Moor in cool temperate Japan. *Jap. J. Phycol.* 31: 156-160.

KUMANO S. & RATNASABAPATHY M., 1982 - Studies on freshwater red algae of Malaysia III. Development of carposporophytes of *Batrachospermum cayennense* Montagne, *B. beraense* Kumano and *B. hypogynum* Kumano et Ratnasabapathy. *Bot. Mag. Tokyo* 95: 219-228.

MONTAGNE C., 1850 - Cryptogamia Guyanensis, seu plantarum cellularium in Guyana gallica annis 1835-1849 a Cl. Leprieur collectarum enumeratio universalis. *Ann. Sci. Nat. Bot.* 14: 83-309.

RATNASABAPATHY M. & KUMANO S., 1982 - Studies on freshwater red algae of Malaysia I. Some taxa of the genera *Batrachospermum, Ballia* and *Caloglossa* from Pulau Tioman, West Malaysia. *Jap. J. Phycol.* 30: 15-22.

RATNASABAPATHY M. & KUMANO S., 1982 - Studies on freshwater red algae of Malaysia II. Three species of *Batrachospermum* from Sungai gombak and Sungai Pusu, Selangor, West Malaysia. *Jap. J. Phycol.* 30: 119-124.

SIRODOT S., 1884 - *Les Batrachospermes.* Paris, Masson, 299 p.

SKUJA H., 1931 - Einiges zur kenntnis der brasilianischen Batrachospermen. *Hedwigia* 71: 78-87.

THÉRÉZIEN Y., 1985 - *Contribution à l'étude des algues d'eau douce de la Guyane Française. Bibliotheca Phycologica* Bd. 72. Vaduz, J. Cramer, 275 p.

RÉGÉNÉRATION DE LA PHÉOPHYCÉE *SARGASSUM MUTICUM* (PHÉOPHYCÉE, FUCALE)

T. GIVERNAUD**, J. COSSON** et A. GIVERNAUD-MOURADI*

*Département de Biologie, Faculté des Sciences de Kenitra, Maroc.
** Laboratoire d'Algologie fondamentale et appliquée de l'Université de Caen, 39 rue Desmoueux, 14000-Caen.

RÉSUMÉ - Les capacités de régénération de la partie basale de la Phéophycée *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt ont été évaluées en culture. Le développement de nouveaux axes sur le pourtour du disque de fixation se fait à partir de cellules végétatives du disque. Les capacités de régénération des disques entiers et de tronçons correspondant à différentes parties du disque ont été observées. Les rameaux du thalle inhibent le développement de ces nouveaux axes et des phénomènes de dominance existent à l'intérieur même du disque entre la partie externe et la partie centrale.

ABSTRACT - The regenerative ability of the holdfast of *Sargassum muticum* has been studied. The development of new axes on the fixation disk's periphery has been observed in photonic microscopy and we have been able to say that they are probably born from a vegetative cell of the disk. The regenerative ability of disks, maimed disks, and pieces of disks have been measured. There is an inhibition of the development of these new axes by the ramifications of the primary axe and in the disk himself there are interactions between the different parts.

MOTS CLÉS : *Sargassum muticum*, régénération.

INTRODUCTION

L'envahissement des côtes françaises depuis 1975 (Cosson *et al.*), et plus particulièrement des côtes normandes, par l'algue brune *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt entraîne des nuisances variées vis-à-vis des activités littorales; mais aucune technique n'a jusqu'à présent permis d'éliminer cette espèce de ces zones sensibles, en raison à la fois de la très grande efficacité de la reproduction sexuée et des possibilités de régénération de certaines parties du thalle.

Le thalle (Figure 1) est constitué d'un disque de fixation sur lequel se développe un axe primaire pérennant à croissance très lente. Au printemps, la cellule apicale de cet axe, en se divisant, est à l'origine des initiales des



Fig. 1: Morphologie du thalle de *Sargassum muticum* (1: disque de fixation; 2: axe primaire pérennant; 3: axe secondaire annuel; 4: ramification de premier ordre; 5: ramification de deuxième ordre; 6: aérocyste; 7: expansion foliacée).

axes secondaires annuels à croissance rapide. Cette partie caduque à port monopodial dégénère en automne après la période de fertilité de l'algue et se détache de l'axe primaire. Pendant l'hiver ne subsiste que le disque

surmonté de l'axe primaire, ensemble que nous appellerons "souche". Fletcher *et al.* (1975) ont montré que les axes possèdent une très forte capacité de régénération. La souche peut subsister plusieurs années (Critchley, 1981). Au cours du temps, le disque de fixation augmente de taille. Il n'est pas rare de trouver, surtout sur des zones peu abritées de la côte, des disques de fixation portant plusieurs axes primaires; enfin la périphérie du disque peut supporter de jeunes axes de petite taille (1 à 5mm de haut ne portant qu'une ou deux expansions foliacées), qui seraient, selon Critchley (1983), de jeunes plantules germant à partir de zygotes tombés sur le disque.

Au cours de ce travail, ont été réalisées des études morphologiques et anatomiques du développement de ces axes surnuméraires sur le disque et étudiées les potentialités régénératrices du disque de fixation soumis à différentes conditions de culture, car les souches ou les fragments de disque laissés en place après arrachage peuvent être à l'origine du repeuplement rapide des zones ainsi nettoyées.

Nous appelons potentialités régénératrices des disques leur capacité à engendrer des axes primaires dressés surnuméraires, ce qui correspond à un changement d'orientation spatiale des divisions cellulaires (croissance tridimensionnelle).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Sargassum muticum a été récoltée sur la côte occidentale du Cotentin (Normandie, France). De façon à ne pas léser les tissus du disque, le substrat sous-jacent est récupéré en même temps que le thalle.

Les observations sur les tissus en cours de régénération ont été effectuées en utilisant les techniques histologiques classiques.

Les cultures ont été réalisées dans des bacs, en circuit fermé, contenant 3 litres d'eau de mer filtrée non enrichie. Chaque bac est ensemencé par quelques grammes d'algues. Cette faible quantité de tissu par rapport au volume d'eau compense la pauvreté relative du milieu de culture (eau de mer filtrée renouvelée toutes les semaines). Cette solution a été choisie de préférence à celle utilisant un milieu enrichi pour obtenir des conditions aussi proches que possible de celles du milieu naturel.

Toutes les cultures, réalisées à 15 $\pm$ 1°C (température moyenne printanière, assurant une bonne croissance de l'espèce) sont éclairées par des tubes fluorescent type "blanc industrie", assurant une intensité de 12 $W.m^{-2}$ pendant 16 heures par cycle de 24 heures.

Trois sortes de cultures ont été réalisées:

Cultures de souches

Les souches, laissées en place sur leur substrat (pour ne pas détériorer la périphérie du disque de fixation) sont placées dans un cristallisoir où est assurée une circulation en milieu fermé (Fig. 2a).

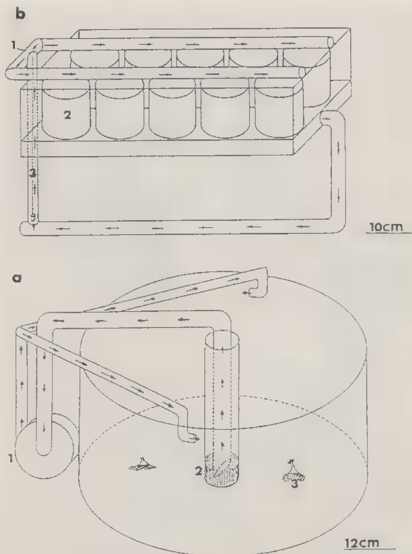


Fig. 2: -a: bac utilisé pour la culture des souches entières (1: pompe; 2: crépine d'aspiration; 3: souches; → sens de la circulation de l'eau). -b: bac utilisé pour la culture des fragments (1: arrivée d'air; 2: cylindre de culture; 3: exhausteur: → sens de circulation de l'eau).

Culture de fragments de disques

Des fragments sont prélevés dans les différentes parties de la souche (Fig. 3) à l'aide d'un emporte-pièce de 4mm de diamètre. Afin de repérer fa-

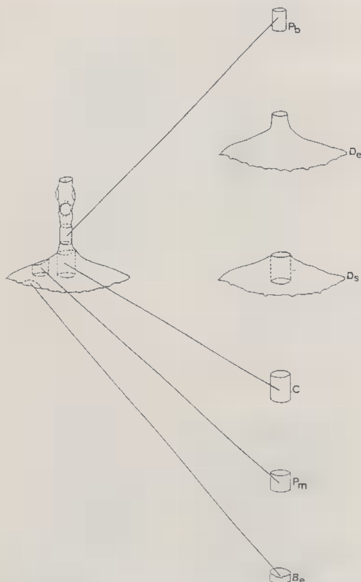


Fig. 3: Différents types de fragments prélevés dans la partie pérennante du thalle (Pb: partie basale de l'axe primaire; De: disque entier; Ds: disque privé de sa partie centrale; Pm: partie moyenne du disque; Be: bord externe du disque; C: partie centrale du disque).

cilement leurs faces supérieure ou inférieure, ils sont maintenus par un système de tubes et de grillage plastique dans leur position d'origine. Ces en-

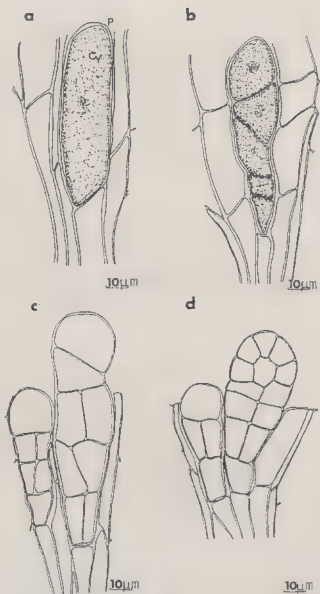


Fig. 4: Premières phases du développement des régénérations. -a: initiation de la régénération (P: paroi; Cy: cytoplasme). -b: filament issu des divisions de la cellule initiale. -c: premiers cloisonnements longitudinaux du filament. -d: premiers stades de développement du massif cellulaire.

sembles sont disposés dans un bac où l'agitation est assurée par une importante circulation d'eau (Fig. 2) en milieu clos. La capacité de régénération est mesurée par le pourcentage de fragments portant au moins l'amorce d'un axe nouveau rapporté au nombre de fragments mis en culture.

Culture de fragments de disques de petite taille

Dans ce cas, les morceaux de tissus ont été débarrassés des épiphytes (algues, bactéries ou champignons) en nettoyant d'abord énergiquement les disques. Après un rinçage soigneux dans de l'eau de mer stérile, les disques sont trempés rapidement dans deux bains successifs d'hypochlorite de calcium à saturation et d'éthanol à 70%. Après plusieurs rinçages dans de l'eau de mer stérile, les disques sont découpés de manière à éliminer les tissus superficiels lésés par le traitement. Les cultures sont donc effectuées uniquement à partir des tissus profonds dans lesquels sont prélevés des cubes de 0,5 à 4mm de côté. Les fragments sont placés par lots de vingt dans des flacons stériles contenant 75cm^3 de milieu nutritif entièrement synthétique (ASP6 F2 de Fries, 1962).

RÉSULTATS

- Étude anatomique des axes primaires surnuméraires formés à partir de fragments de thalles.

Des séries de coupes réalisées sur différents fragments mis en culture ont permis de reconstituer la chronologie du développement. Que ce soit sur des disques entiers, des fragments de disques ou des axes, les différentes étapes de cette régénération sont les mêmes:

Phase d'initiation (Fig. 4a)

Dans les tissus, certaines cellules, généralement les plus superficielles, se singularisent par une augmentation de leur pigmentation, du fait d'un développement de l'appareil photosynthétique et par une multiplication des organites cellulaires. Il se produit un épaississement et une modification de la paroi marquée par un changement de réaction vis-à-vis du bleu de toluidine: elle se colore en bleu violacé foncé alors que la coloration dans le reste du tissu est nettement plus claire tendant vers le mauve.

Phase de division cellulaire

Par des divisions transversales observées dans la cellule initiale (Fig. 4b) se forme une petite file de cellules qui ressemblent, par leurs dimensions et leur coloration, aux cellules superficielles du thalle.

Puis quelques divisions longitudinales se produisent (Fig. 4c) n'affectant cependant pas le volume de l'ensemble. Finalement, des divisions actives qui n'intéressent que quelques cellules du filament ainsi formé aboutissent à la mise en place d'un massif cellulaire (Fig. 4d et 5a) plus ou moins arrondi.

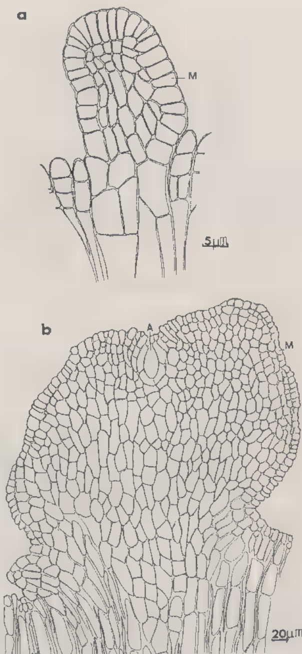


Fig. 5: Différenciation tissulaire à l'origine de nouveaux axes dressés. -a: développement du massif cellulaire avec un début de différenciation de méristoderme. -b: individualisation de la cellule apicale et formation de la crypte, (A: cellule apicale; M: méristoderme).

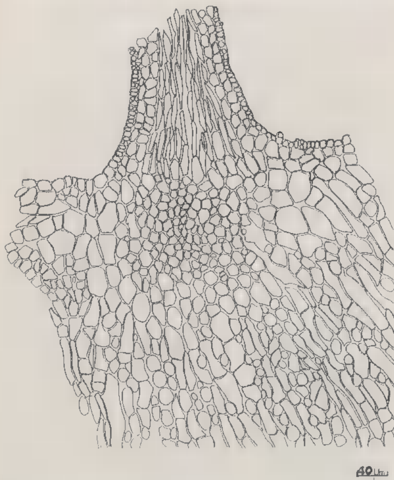


Fig. 6: Coupe longitudinale de la partie basale d'un nouvel axe. (Noter la continuité des tissus néoformés avec ceux du disque)

Phase de différenciation

A la surface du massif cellulaire, une cellule (la future cellule apicale) augmente de volume. La surface du massif cellulaire s'invagine, amenant ainsi la cellule apicale au fond d'une petite crypte remplie de mucilage. L'apicale (Fig. 5b) développe alors un petit axe ressemblant à une jeune plantule issue de la germination d'un zygote (Fig. 6).

Au cours de nos observations nous n'avons jamais trouvé, soit à la surface des fragments, soit inclus dans les tissus, de groupes de cellules dont l'aspect puisse évoquer la possibilité de la germination d'un zygote venu se

fixer sur les tissus de l'algue. De plus, il n'y a jamais de discontinuités tissulaires entre les axes des jeunes pousses et le disque originel.

Facteurs induisant la formation d'axes primaires surnuméraires

Régénération à partir de souches

Des algues entières dont les axes annuels ont été préservés, ne présentent qu'exceptionnellement des proliférations sur le disque basal. Par contre, lorsque l'axe primaire a été sectionné, de nombreux rameaux prennent naissance surtout sur les bords du disque. Lorsque la partie pérennante de l'axe est éliminée, des axes surnuméraires apparaissent non seulement sur les bords du disque, mais aussi sur les bords de la cicatrice centrale.

Régénération à partir de fragments de disque

Après trois mois de culture (tableau I), les tissus prélevés dans la partie moyenne du disque présentent la plus forte capacité à former des axes surnuméraires; par contre, les tissus du bord du disque régénèrent moins bien. Enfin la partie centrale ainsi que les premiers millimètres de l'axe pérennant ne fournissent pratiquement pas d'axes surnuméraires. Par ailleurs, les nouveaux axes prennent naissance préférentiellement sur les faces latérales des fragments plutôt que sur les faces inférieures ou supérieures.

Origine des fragments	Nombre de fragments mis en culture	% de régénération
Partie centrale du disque	36	11
Disque privé de sa partie centrale	7	85
Partie moyenne du disque	34	88.5
Bord externe du disque	60	31
Partie basale de l'axe primaire	33	24

Tableau I - Capacité de régénération des différentes parties du disque de fixation de *Sargassum muticum* exprimé en pourcentage de fragments qui ont développé des proliférations.

Les variations de la taille des fragments modifient les potentialités de régénération: ainsi pour des fragments de 5mm de côté, prélevés dans la partie moyenne du disque, le nombre d'axes surnuméraires produits est comparable à celui obtenu dans l'expérience précédente. Le pourcentage de fragments susceptibles de produire des repousses diminue proportionnellement à la taille des fragments, pour devenir nul lorsque les morceaux de tissu n'atteignent plus que 1mm de côté. Des observations réalisées au microscope sur ces fragments montrent cependant la présence de petites files de trois ou quatre cellules très pigmentées tout à fait semblables à celles observées aux premiers stades de développement de nouveaux axes.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Ces observations tendent à démontrer que les axes surnuméraires portés par le disque de fixation de *Sargassum muticum* se développent à partir de cellules du disque et ne sont pas, comme le supposait Critchley (1983), des germinations issues de la reproduction sexuée déposées sur le disque basal.

L'axe primaire inhibe le développement, sur le disque, de tout axe de même type. Cette inhibition est levée lorsque l'axe primaire est supprimé ou mutilé par arrachage, quand par exemple l'algue est installée en mode battu; les disques portent alors un grand nombre d'axes de taille réduite très ramifiés.

Des phénomènes de dominance existent entre les apex des différentes ramifications du thalle (Chamberlain et al., 1979).

Gorham (1979) a par ailleurs mis en évidence l'influence des auxines et antiauxines sur la croissance des rameaux annuels.

Il apparaît d'autre part que les nouveaux axes apparaissent sur le pourtour du disque des souches alors que ce sont les parties moyennes des fragments isolés de disque qui présentent le plus fort pouvoir organogène. Il existe donc entre les différentes parties du disque des mécanismes de régulation et d'interdépendance dont le fonctionnement est interrompu par l'isolement des tissus. Le fait que les axes prennent préférentiellement naissance sur les faces latérales des fragments indique que les cellules profondes sont à l'origine des néoformations. Sur les disques intacts, leurs potentialités sont inhibées en raison de leur localisation interne (effet mécanique).

Enfin les variations d'expression des potentialités des cellules du disque en fonction de la taille des fragments montrent que le fragment doit avoir une taille critique (de l'ordre de $1 mm^3$) en-dessous de laquelle le nombre de cellules vivantes est insuffisant pour assurer le développement d'axes.

Ces résultats permettent de confirmer la très grande capacité de développement de *Sargassum muticum* à partir des organes pérennants (disque et base de l'axe) et d'expliquer son aptitude à recoloniser très rapidement les sites d'où elle a été arrachée. Ils mettent en évidence des phénomènes de dominance, déjà montrés au niveau des apicales des axes primaires et secondaires, mais qui existent aussi au niveau des tissus du disque. Il serait intéressant d'étudier les mécanismes qui entrent en jeu dans ces phénomènes et en particulier d'établir le rôle des phytohormones (auxines et kinétine en particulier) sur la régénération.

BIBLIOGRAPHIE

CHAMBERLAIN A.H.L., GORHAM J., KANE D.F. & DEWEY S.A., 1979 - Laboratory growth studies on *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. II: Apical dominance. *Bot. Mar.* 22 (1): 11-19.

COSSON J., DUGLET A. & BILLARD C., 1977 - Sur la végétation algale de l'étage littoral dans la région de Saint-Vaast-La-Hougue et la présence d'une espèce japonaise nouvelle pour les côtes françaises: *Sargassum muticum*

(Yendo) Fensholt (Phéophycée, Fucale). *Bull. Soc. Linn. Normandie* 105: 109-116.

CRITCHLEY A.T., 1981 - Age determination of *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *Brit. Phycol. J.* 16: 134.

CRITCHLEY A.T., 1983 - *Sargassum muticum*: a morphological description of european material. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 63 (4): 813-824.

FLETCHER R.L. & FLETCHER S.M., 1975 - Studies on the recently introduced alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. I. Ecology and reproduction. *Bot. Mar.* 18 (3): 149-156.

FRIES L., 1963 - On the cultivation of axenic red algae. *Physiol. Plant. (Copenhagen)* 16 (3): 695-708.

GORHAM J., 1979 - Laboratory growth studies on *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt III: Effects of auxins and anti-auxins on extension growth. *Bot. Mar.* 22: 273-280.

ECBALLOCYSTIS RAMOSA f. *MINOR* BOURRELLY *et* COUTÉ, A RARE GREEN ALGA FROM INDIA

L. JOSE and R.J. PATEL

Department of Biosciences, Sardar Patel University,
Vallabh Vidyanagar 388 120, Gujarat, India.

ABSTRACT - *Ecballocystis ramosa* f. *minor* Bourrelly et Couté, a rare green alga collected from the Rajamala hills of Moonar in Kerala is reported for the first time from India. Interesting character like presence of polar nodular thickening is observed.

RÉSUMÉ - *Ecballocystis ramosa* f. *minor* Bourrelly et Couté, algue verte rare récoltée au Kerala dans les collines Rajamala de Moonar, est signalée pour la première fois en Inde. La présence de nodules polaires est observée.

KEY WORDS : Algae, Chlorophyta, Chlorococcales, *Ecballocystis ramosa* f. *minor*., India.

INTRODUCTION

The genus *Ecballocystis* was established by Bohlin in 1897 with the type species *E. pulvinata* (Iyengar, 1932). Fritsch (1918) added two more species, *E. ramosa* and *E. simplex* from South Africa. Iyengar (1932) collected many taxa of *Ecballocystis* from various parts of South India. This includes two new species, *E. fritschii* and *E. courtallensis*, two new varieties, var. *typica* and var. *pulneyensis* of *E. fritschii*, two new forms, f. *typica* and f. *jogensis* of *E. courtallensis* and three new varieties, var. *typica*, var. *minor* and var. *diffluens* of *E. pulvinata*. Bourrelly & Couté (1986) established a new form, *E. ramosa* f. *minor* from Réunion island.

The genus *Ecballocystis* was originally ascribed to Chlorodendraceae, Tetrasporales (Iyengar, 1932). Iyengar (1932) however, pointed out its similarities with *Oocystis*. Philipose (1967) considered it to be a member of Chlorococcales. Bourrelly (1966, 1988) included it in the family Hormotilaceae of the order Chlorococcales, but Bourrelly (1972) included it in the family Palmellaceae of the order Chlorococcales. Komarek & Fott (1983) included it in the family Botryococcaceae of the order Chlorococcales.

The absence of zoospore production was the main criteria for including the genus under the order Chlorococcales (Bourrelly, 1988). Bourrelly &

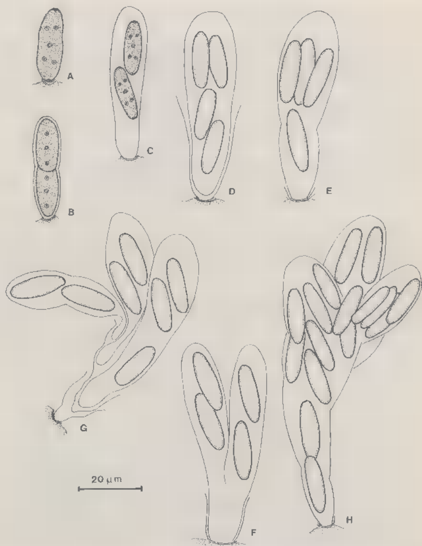


Fig. 1 A-H: *Echallocystis ramosa* f. *minor* Bourrelly et Couté.- A: single cell attached to the substratum by its conical end with a conspicuous mucilaginous pad also showing the nucleus, chloroplast, pyrenoids and polar nodular thickenings. B: recently divided colony with two cells. C: two celled colony. D, E: four celled dendroid colony with different mode of arrangement of autospores. F: showing branching. G et H: dendroid colonies showing highly branched appearance.

Couté (1986) included it in the order Tetrasporales of the family Dictyosphaeriaceae. Here it is included in the family Hormotilaceae of the order Chlorococcales following Bourrelly (1988).

Ecballocystis is a freshwater genus mostly found in the mountain streams or rivers with rocky beds or near waterfalls either as lithophytes or epiphytes rarely detached free floating.

MATERIALS AND METHODS

The authors collected a species of *Ecballocystis* from a small mountain stream, at an altitude of about 5000 feet of Rajamala hills of Moonar in Idukki district of Kerala. The collection was done by scrubbing the rock surface. The material was preserved in 4% formaldehyde for further study.

OBSERVATIONS AND DISCUSSION

The plants were found to be growing in the cool stream water along with *Zygnema* and some members of Cyanophyceae and Bacillariophyceae. The water temperature was 17°C. Since the plants are very minute, the authors could not ascertain from the field whether they are truly lithophytic. Since the collection is mostly done by scrubbing the rock surface and since the colonies under the microscope are seen free with a free mucilaginous pad or attached to some filamentous algae, it is considered here as lithophytic or epiphytic.

Isolated single free cells attached to the substratum are observed (Fig. 1A). In colonies cells may be in two, four or in multiplies of four. Rupturing of the parent cell wall is not of frequent occurrence. Mostly cells are found in dendroid colonies, sometimes having a branched appearance (Fig. 1 F-H). The colonies are attached to the substratum by a mucilaginous pad. Iyengar (1932) observed that the cells which are loose exhibit polarity, i.e. one end of the cell is broadly rounded and the other end slightly conical. He suggested that the cells are attached to the substratum by their conical end. The present observation confirm this view (Fig. 1A). Iyengar (1932) based his observations on *E. ramosa* on the South African material supplied to him by Fritsch. He observed that the cell contents of *E. ramosa* and *E. fritschii*, a new species established by him, are quite similar. The cells contain a central nucleus with 2 or 4 parietal plate like chloroplast. The chloroplasts are delicate light green and are closely crowded. A small lamellated polar nodular thickening is present in mature cells as observed by Fritsch (1918). Iyengar (1932) observed such polar nodular thickenings in *E. courtallensis*. The present specimens are smaller than the *E. ramosa* described by Iyengar. The maximum cell length of the present taxon is 23μm, whereas it reached upto 48μm in Iyengar's specimens. Bourrelly & Couté (1988) established a new form, *E. ramosa* f. *minor*, which measured 10-15μm x 4.5-7μm. This taxon is established based on its less dimensions and weak plastids. From the diagram of Bourrelly & Couté (1986) it appears that the parent cell wall is wavy and no mention is made about the polar nodular thickening. *E. ramosa* is distinguished from all other species of *Ecballocystis* by colony being a small dendroid branched system, plate like chloroplast, cell division usually into four, occasionally into eight and the position of the ruptured old mother cell wall. The present alga showed variation in the cell structure and

dimension from the type. But it showed close similarities with the new forma established by Bourrelly & Couté (1986). Considering the similarities exhibited by the present taxon to *E. ramosa* f. *minor*, the present algae is considered to be the same and is treated here as *E. ramosa* f. *minor*, which is a new report for India.

Echallocystis ramosa Fritsch f. *minor* Bourrelly *et* Couté
Fig. 1 A-H. Bourrelly & Couté 1986. p. 97. Plate IV, Fig. 7.

Thallus microscopic forming two to many celled generally branched dendroid colonies. The whole colony is attached to the substratum by a prominent mucilaginous pad. Cells in the colony usually in the multiples of two. Cells elongate, cylindrical with rounded or slightly conical ends, 12-23μm long, 4.4-7.6μm broad, with a central nucleus with two or four parietal plate like chloroplasts, each with a small pyrenoid, lamellated polar nodular thickenings seen in mature cells. Reproduction is by autospores. Autospores are formed in each cell by the division of the cell contents into four.

Habitat: On rocks splashed by a mountain stream in Rajamala hills of Moonar in Idukki district of Kerala, India. C. N° K. 51.

REFERENCES

BOURRELLY P., 1966 *Les Algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome I: Les Algues Vertes.* Paris, 511 p.

BOURRELLY P., 1972 - *Les Algues d'eau douce. Initiation à la Systématique, Tome I: Les Algues Vertes.* Paris, 572 p.

BOURRELLY P., 1988 - *Compléments. Les Algues d'eau douce. Initiation à la Systématique Tome I: Les Algues Vertes.* Paris. 182 p.

BOURRELLY P. & COUTÉ A., 1986 - Algues d'eau douce de l'Ile de la Réunion. *Cryptogamie, Algol.* 7: 87-121.

FRITSCH F.E., 1918 - Contribution to our knowledge of the freshwater algae, mostly from the Cape peninsula. In the Herbarium of South African Museum. *Ann. South African Museum* 9: 483-611.

IYENGAR M.O.P., 1932 - Two little known genera of green algae (*Tetrasporidium* and *Echallocystis*). *Ann. of Bot.* 46: 191-227.

KOMAREK J. & FOTT B., 1983 - *Chlorophyceae (Grünalgen). Ordnung Chlorococcales. Das Phytoplankton des Susswassers* 7,1, Stuttgart, 1044p.

PHILIPOSE M.T., 1967 - *Chlorococcales.* I.C.A.R., New Delhi, 365p.

OUVRAGES REÇUS POUR ANALYSE

COMPERE, 1989 - **Flore pratique des algues d'eau douce de Belgique -2- Pyrrhophytes (Cryptophyceae, Dinophyceae), Raphidophytes (Rhaphidophyceae, Euglenophytes (Euglenophyceae).** *Jardin Bot. Nat. Belgique, Meise* 208p.

Le premier volume de cette flore était consacré aux Cyanophytes. Celui-ci rassemble Pyrrophytes, Raphidophytes et Euglénophytes. Dans les Pyrrhophytes, nous trouvons la description de six genres de Cryptophycées et 20 de Dinophycées; dans les Raphidophytes de cinq genres, et dans les Euglénophytes de 23 genres.

Une série de clefs permet d'arriver à la famille, puis au genre, et enfin à l'espèce; pour chaque espèce: diagnose et répartition mondiale accompagnées le plus souvent d'une figure. 343 figures illustrent le texte. Un petit volume solidement documenté qui justifie parfaitement son titre de "Flore Pratique".

P. Bourrelly

ENTWISLE T.J., 1989 - **Macro algae in the Yarra River basin: flora and distribution.** *Proceed. Roy. Soc. Victoria* 101: 1-76.

L'auteur étudie les algues filamenteuses d'une rivière d'Australie de la région de Melbourne. Il signale et décrit 43 espèces appartenant aux Rhodophycées (18%), Chlorophytes (55%), Chrysophytes (13%), et Cyanophytes (14%). Une clef de détermination des familles est donnée. Ces algues sont groupées en treize groupes ou associations. La systématique et l'écologie de ces algues sont précisées ainsi que leur répartition géographique. Une bonne illustration complète ce travail écologique fondé sur une systématique rigoureuse.

P. Bourrelly

KRISTIANSEN J. & TONG D. - ***Chrysosphaerella annulata* sp. nov., a new scale bearing Chrysophyte.** 1989. *Nord. J. Bot.* 9: 329-332.

Les auteurs décrivent d'Autriche et de Chine une sp. nov. qu'ils placent dans le genre *Chrysosphaerella*. La structure fine des épines siliceuses est identique à celle des *Chrysosphaerella* coloniales, et ici les cellules sont solitaires comme chez *Spiniferomonas*. Ayant des structures proches de cette sp. nov. les taxons *Spiniferomonas septispina*, *Sienigmata* et *S. coronacircumspina* sont placés aussi dans le genre *Chrysosphaerella*.

Les mêmes auteurs (1989, *Nov. Hedwigia* 49: 183-202) donnent une étude complète des Chrysophycées à écailles siliceuses de la province du Wuhan, en Chine. Ils signalent 36 taxons appartenant aux genres *Chrysosphaerella* (1 tax.), *Spiniferomonas* (2 t.), *Paraphysomonas* (5 t.), *Mallomonas* (22 t.) et *Synura* (6 t.). Bonne illustration de 69 fig.

P. Bourrelly

SILVA-LAUDARES R., 1987 - **Estudo taxonômico das Diatomáceas (Bacillariophyceae) coletadas no arroio do Faxinal (Sanga da água boa), Torres, Rio Grande do Sul, Brasil.** *Insula, Florianopolis*, 17: 179p.

Etude systématique des 141 taxons de Diatomées d'eau douce récoltées au Brésil (Région de Torres). Descriptions et figures des Diatomées rencontrées (141 figures en 14 planches). Clef de détermination, commentaires systématiques, bibliographie très complète, font de ce travail un document important pour cette région encore mal connue pour sa flore diatomique. L'illustration très abondante montre bien le polymorphisme de certaines espèces.

P. Bourrelly

KOMAREK J. & ANAGNOSTIDIS K., 1989 - **Modern approach to the classification system of Cyanophytes 4 - Nostocales.** *Arch. Hydrobiol. Suppl. 82, 3 (Algol. Stud.* 56): 247-345.

Dans le même périodique en 1985, 1986 et 1988, les auteurs ont publié le début de la révision systématique des Cyanophycées en vue de la préparation d'une monographie pour la "Süsswasserflora von Mitteleuropa". Nous avons maintenant les 32 genres de *Nostocales* groupées en quatre familles: "Scytonemataceae, Microchaetaceae, Rivulariaceae et Nostocaceae.

Signalons une excellente illustration: 27 planches et 9 tableaux pour justifier les coupures génériques. Leur nov. gen. *Trichormus* est détaché de *Anabaena* dont il diffère par le mode de développement des akinètes. Le développement des akinètes est centrifuge par rapport aux hétérocystes chez *Anabaena*, et il est centripète chez *Trichormus*.

Avec les 3 publications antérieures, nous avons là une étude magistrale sur les Cyanophycées, travaux indispensables pour les systématiciens.

P. Bourrelly

MONTOYA H.T. & ACOSTA J.P., 1989 - **Algas des Rio Chillon Lima (con exclusion de las diatomeas).** *Cons. Nac. Cienc. Technnol. Lima* 33p + 16pl.

Le Rio Chillon parcourt 126km dans le Pérou depuis sa source à 4150 mètres d'altitude jusqu'à l'Océan Pacifique en direction Est-Ouest.

Les auteurs décrivent 26 Chlorophytes et 15 Cyanophytes, 2 Xanthophytes, 1 Euglènophyte, 1 Pyrrophyte et 1 Rhodophyte. Parmi ces algues cosmopolites en général, 11 sont signalées pour la première fois au Pérou. Des notices systématiques et écologiques accompagnent ce travail illustré par 127 figures (dessins au trait et microphotographies). Signalons la présence d'espèces des régions froides comme *Ancylonema* à la source du Rio, et des régions chaudes *(Cloniophora)* dans la partie aval.

Travail intéressant, bien illustré.

P. Bourrelly

TABLE DU TOME 11



Commission paritaire 16-1-1986 - N° 60590
Dépôt légal n° 15273 - Imprimerie de Montligeon
Sortie des presses le 20 novembre 1990
Imprimé en France
Éditeur : A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames)
Président : A. Couté; Secrétaire : D. Lamy
Trésorier : R. Baudoin; Directeur de la publication : H. Causse

